DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO E ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO TIPO MINAS PADRÃO COM ADIÇÃO DE PRÓPOLIS

Renata Machado Castro [1]

Andres Delgado Canedo [2]

Vinicius Yuri da Fontoura Teixeira [3]

Gabriele Doyle Cezar [4]

Cassia Regina Nespolo [5]

Rutilene Jacondino Roll [6]

Resumo:

A utilização de conservantes e antimicrobianos em produtos alimentícios é amplamente estudada pela tecnologia de alimentos, visando principalmente o aumento da vida de prateleira e o controle da proliferação de microrganismos, sem que haja significativa alteração nutricional e sensorial dos produtos. Entretanto, a aceitação de conservantes sintéticos tem decaído devido aos possíveis prejuízos à saúde dos consumidores. Buscando conservantes originários de substratos naturais, já foram desenvolvidos estudos propondo o uso de extratos etanólicos de compostos de origem natural, como o alecrim e a própolis. A própolis tem sido largamente estudada por suas propriedades químicas e biológicas que conferem atividades antimicrobianas e antioxidantes, por exemplo. O Brasil é citado como um dos maiores produtores mundiais da própolis, porém o tipo de própolis produzida varia qualitativamente de uma região para outra. Apesar de haver diversos tipos, as mais comumente estudadas no Brasil são a própolis Verde e a Vermelha. No município de São Gabriel - Rio Grande do Sul, há produção da chamada própolis Âmbar. Essa própolis já possui estudos que relatam a atividade antimicrobiana do seu extrato etanólico. Pelo apresentado anteriormente, foi despertado o interesse em desenvolver um produto lácteo que permitiria realizar testes quanto a capacidade antimicrobiana da própolis Âmbar em uma matriz alimentícia. A fim de testar a ação antimicrobiana do extrato etanólico da própolis Âmbar, este foi incorporado à massa do queijo tipo Minas Padrão, que posteriormente foi submetido à análises microbiológicas. O extrato etanólico da própolis âmbar foi preparado no Laboratório de Microbiologia da UNIPAMPA - São Gabriel, enquanto o queijo tipo Minas Padrão foi produzido na planta de agroindústria da Fundação Bradesco - Rosário do Sul. As análises microbiológicas compreenderam a determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes, contagem de bolores e leveduras e detecção da presença de Salmonella sp. A ausência de contaminação microbiológica e de divergência entre as formulações indica a possibilidade do consumo destes, mas não apresentou informações sobre a ação antimicrobiana da própolis. Portanto, a próxima etapa será produzir novamente os queijos tipo Minas Padrão com adição de própolis, realizando novas análises microbiológicas ao longo da maturação e a análise sensorial para verificar a aceitação do produto pelo consumidor. O trabalho aqui exposto consiste no relato de uma experiência, visto que as análises até então realizadas fazem parte de um estudo preliminar para produção do queijo em maior escala.

Palavras-chave: Própolis Âmbar; Análise microbiológica; Ação antimicrobiana; Queijo tipo Minas Padrão.

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO E ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO TIPO MINAS PADRÃO COM ADIÇÃO DE PRÓPOLIS

[1] Aluno de graduação. reodacham@gmail.com. Autor principal

[2] Docente. andres.delgado.canedo@gmail.com. Co-autor

[3] Aluno de graduação. viniciusfontouratexeira@yahoo.com.br. Co-autor

[4] Aluna de ensino médio técnico. gabrieledcezar@gmail.com. Co-autor

[5] Docente. cassianespolo@unipampa.edu.br. Orientador

[6] Técnica de Laboratório. rutiroll@gmail.com. Co-orientador

DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO E ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO TIPO MINAS PADRÃO COM ADIÇÃO DE PRÓPOLIS

1 INTRODUÇÃO

A utilização de conservantes, antioxidantes e antimicrobianos em produtos alimentícios é amplamente estudada pela tecnologia de alimentos, visando principalmente o aumento da vida de prateleira e o controle da proliferação de microrganismos, sem que haja significativa alteração nutricional e sensorial dos produtos (DEL RÉ, 2012). Entretanto, a aceitação de conservantes sintéticos tem decaído devido aos possíveis prejuízos à saúde dos consumidores, provenientes dos aditivos químicos que podem resultar em compostos nocivos (TZIMA et al, 2015). Buscando conservantes originários de substratos naturais, já foram desenvolvidos alguns estudos propondo o uso de extratos etanólicos de compostos de origem natural, como o açafrão-da-terra (PAIM, 2010), tomilho, alecrim e própolis (TZIMA et al, 2015).

A própolis tem sido largamente estudada por suas propriedades químicas e biológicas que conferem atividades antimicrobianas e antioxidantes, por exemplo (CORRÊA, 2017). O Brasil é citado como um dos maiores produtores mundiais da própolis, porém o tipo de própolis produzida varia qualitativamente de uma região para outra. Apesar de haver diversos tipos, as mais comumente estudadas no Brasil são a própolis Verde e a Vermelha. No município de São Gabriel – Rio Grande do Sul, há produção da chamada própolis Âmbar. Essa própolis já possui estudos quanto a sua caracterização química e há relatos das atividades antimicrobiana, antioxidante e antileucêmica do seu extrato etanólico (FERREIRA, 2017). O extrato etanólico da própolis Verde foi avaliado quanto a sua capacidade de inibição de microrganismos quando aplicado na superfície de queijos tipo Gorgonzola, apresentando resultados positivos tanto para sua atividade biocida quanto nas análises sensoriais. Portanto, é considerada viável a utilização desse extrato como conservante para esse tipo de queijo (CORRÊA, 2017).

Pelo apresentado acima, foi despertado o interesse em desenvolver um produto lácteo que permitiria realizar testes quanto a capacidade antimicrobiana da própolis Âmbar em uma matriz alimentícia. No componente curricular Tecnologia de Produtos Fermentados do curso de Biotecnologia da UNIPAMPA – Campus São Gabriel, foram desenvolvidas práticas em agroindústria de alimentos, em parceria com a Fundação Bradesco de Rosário do Sul. A fim de testar a ação antimicrobiana do extrato etanólico da própolis Âmbar, este foi incorporado à massa do queijo tipo Minas Padrão, que posteriormente foi submetido às análises microbiológicas. O intuito da utilização do extrato na massa ao invés da superfície do queijo foi justamente a produção de um produto lácteo diferenciado, com o sabor suave da própolis, que poderia ter seu efeito sensorial reduzido se apenas aplicado na superfície. O trabalho aqui exposto consiste no relato de uma experiência, visto que as análises até então realizadas fazem parte de um estudo preliminar para produção do queijo em maior escala.

2 METODOLOGIA

O extrato etanólico da própolis âmbar foi preparado no Laboratório de Microbiologia da UNIPAMPA - São Gabriel, utilizando 80 g da própolis e álcool de cereais para um volume final de 400 mL, dissolvidos em banho-maria à 60°C. O extrato foi acondicionado em um frasco para reagentes e mantido em local com pouca luminosidade à temperatura ambiente, sendo agitado eventualmente. Após 96 horas, o extrato foi distribuído em tubos tipo Falcon de 50 mL e centrifugado a 5000 rpm, por oito minutos à temperatura ambiente. O sobrenadante foi filtrado em papel filtro e transferido para um novo frasco para reagentes, que foi armazenado à temperatura ambiente para uso posterior.

O queijo tipo Minas Padrão foi produzido na planta de agroindústria da Fundação Bradesco – Rosário do Sul. Para o preparo deste, foram utilizados 20 litros de leite fornecido pela Fundação Bradesco, pasteurizado a 65ºC, por 30 min, e após mantido a 35°C em um tanque encamisado de aço inox. Foi acrescentado e homogeneizado ao leite o ácido láctico, seguido de um repouso de 20 minutos. Após, foram adicionados o coagulante líquido e o cloreto de cálcio, também submetidos à homogeneização. A coalhada formou-se 60 minutos depois da adição do coagulante e foi cortada com uma lira manual. A liberação do soro iniciou e durante 15 minutos foi mexida suavemente para acelerar a liberação. A massa novamente foi aquecida a 35°C e, enquanto era mexida com mais intensidade para obtenção do ponto da massa, foi adicionada água a 85°C. Ao atingir o ponto da massa, foi retirado cerca de metade do soro presente na massa com o auxílio de um dessorador. A quantidade aproximada de soro retirado foi preenchida com água à 80°C, agitando a massa após completar o volume, com posterior dessoramento e prensagem da massa. Nesse ponto, foi adicionado sal à massa, misturando bem (NESPOLO et al., 2015). Seis porções de 100 g da massa foram separadas para análise, sendo que em duas porções foram incorporados 1,33 µL do extrato da própolis na massa. As porções foram distribuídas em formas para queijo devidamente identificadas e mantidas em câmara fria por 24 horas. Os queijos foram desenformados e levados à câmara de maturação por 70 dias a 7°C.

As análises microbiológicas compreenderam a determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes, contagem de bolores e leveduras e detecção da presença de *Salmonella sp*. Para a análise de coliformes termotolerantes e bolores e leveduras, foram dissolvidos e homogeneizados 25 g de queijos com e sem própolis em 225 mL de Água Peptonada 0,1%, constituindo a diluição 0,1. Na sequência, foram realizadas diluições seriadas até a diluição 0, 0001. As diluições 0,001 e 0,0001 de cada queijo tiveram 100 µL semeados em placas de Petri com meio Ágar Batata Dextrose, para contagem de bolores e leveduras. As placas foram incubadas a 25ºC por 7 dias. A determinação do NMP de coliformes termotolerantes foi realizada a partir da inoculação de 1 mL das diluições 0,1, 0,01 e 0, 001 em tubos contendo 9 mL de caldo EC e tubos de Durham invertidos, incubados em estufa a 45ºC por 48 horas (BRASIL, 2003). Todos os testes foram realizados em triplicata.

Para detecção de *Salmonella sp.*, foi realizado o pré-enriquecimento das amostras de queijos com e sem própolis em Solução Salina Peptonada Tamponada 1%, a partir de 10 g de amostra homogeneizadas em 90 mL de solução e incubadas por 24 horas a 37ºC. Após, foram utilizadas placas *Compact Dry SL* (Madasa) como um método rápido para detectar a presença ou ausência de *Salmonella sp.*, nas quais foram aplicados 0,1 mL da amostra pré-enriquecida em uma extremidade e 1 mL de água destilada estéril na região oposta. As placas foram incubadas invertidas em estufa a 42ºC por 24 horas, conforme instruções do fabricante (NISSUI, 2018).

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Os queijos foram acompanhados durante o período de maturação e não houve alteração no odor dos queijos, nem crescimento de fungos na superfície, mas foi observada perda aparente de umidade e coloração amarelada intensificada, sem diferenças nos produtos com e sem própolis. A análise dos resultados microbiológicos foi baseada no Regulamento Técnico geral para a fixação dos Requisitos Microbiológicos de Queijos (BRASIL, 1996) e no Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos (BRASIL, 2001). As placas utilizadas para contagem de bolores e leveduras não apresentaram crescimento de colônias na menor diluição utilizada após o período de incubação, indicando valor menor que 1,0 x 10^{1} UFC/g de amostra. Quanto aos coliformes termotolerantes, o resultado final para todas as amostras analisadas foi inferior a 3,0 NMP/g (Tabela 1), visto que todos os tubos de cada amostra tiveram

resultados negativos. Não foi detectada a presença de *Salmonella* sp. em 25 g em nenhuma das amostras testadas.

Tabela 1 – Número Mais Provável por grama, para séries de 3 tubos com inóculos 0,1, 0,01 e 0,001 e respectivo intervalo de confiança para todas as amostras avaliadas.

Número de tubos positivos			**NMP/g**	**Intervalo de confiança 95%**	
0,01	**0,001**	**0,0001**		**Inferior**	**Superior**
0	**0**	**0**	**< 3,0**	**-**	**9,5**

Fonte: do autor, 2018.

Os resultados microbiológicos avaliados estão de acordo com o estipulado pela legislação brasileira para queijos (BRASIL, 1996; 2001). A ausência de contaminação microbiológica e de divergência entre as formulações indica a possibilidade do consumo destes, mas não apresentou informações sobre a ação antimicrobiana da própolis. Os resultados refletem, também, a eficiência das Boas Práticas de Fabricação aplicadas no desenvolvimento dos produtos. Portanto, a próxima etapa será produzir os queijos tipo Minas Padrão em maior escala com adição de própolis, realizando novas análises microbiológicas ao longo da maturação e a análise sensorial para verificar a aceitação do produto pelo consumidor.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As amostras de queijo com e sem própolis apresentaram os mesmos resultados nas análises microbiológicas, sendo, portanto, inconclusiva a ação antimicrobiana do extrato etanólico da própolis Âmbar. Porém, a realização de análises sensoriais permitirá inferir se há aceitação do queijo tipo Minas Padrão acrescido do extrato da própolis pelos consumidores. A realização de análises microbiológicas ao longo da maturação dos queijos, e não somente no queijo maturado, fornecerá informações sobre a ação da própolis como um conservante natural em derivados lácteos fermentados.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Portaria nº 146, 7 de março de 1996. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 11 mar. 1996.

BRASIL. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

BRASIL. Instrução normativa nº 62, de 24 de janeiro de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF,, 18 de setembro de 2003.

CORRÊA, F. T. **Ação antimicrobiana da própolis verde em microrganismos isolados e identificados na superfície de queijos tipo Gorgonzola**. 2017. 58p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.14, n.2, p.389-399, 2012.

FERREIRA, V. U. **Caracterização química, atividades antioxidante, antileucêmica e antimicrobiana da própolis Âmbar sul brasileira**. 2017. 53p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, 2017.

NESPOLO, C.R.; OLIVEIRA, F.A.; PINTO, F.S.T.; OLIVERA, F.C. **Práticas em Tecnologia de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2015. 205 p.

NISSUI. **Compact Dry SL**. Disponível em: <https://hyserve.com/files/Compact%20Dry%20PI_SL-version%2006-08-920pcs.pdf>. Acesso em: 12 set. 2018.

PAIM, M. P. **Avaliação antibacteriana *in vitro* de extratos etanólicos de açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.) frente a microorganismos transmissíveis por alimentos**. 2010. 47p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

TZIMA, K. et al. Potential use of Rosemary, Propolis and Thyme as Natural Food Preservatives. **Journal of Nutrition and Health**, USA, v.1, n.1, p.1-6, 2015.