

Estabilidade Microbiológica de Requeijão Cremoso

Microbiological stability of Requeijão cremoso

Darlila A. GALLINA^{1*}, Ariene G. F. VAN DENDER¹, Fabiana K. H. S. TRENTO¹, Izildinha MORENO¹, Patrícia B. ZACARCHENCO

RESUMO

O requeijão cremoso é o representante brasileiro mais conhecido e de maior consumo da classe dos queijos fundidos, processados e pasteurizados. Sua produção e consumo aumentaram significativamente nos últimos anos. A estabilidade microbiológica do requeijão cremoso, além da qualidade microbiológica das matérias-primas utilizadas, se deve ao seu processo de fusão aplicado à massa durante a fabricação. Neste trabalho foram realizados três processamentos de requeijão cremoso para determinação da estabilidade microbiológica do produto durante a armazenagem a 4°C por 90 dias. Determinações microbiológicas foram realizadas em amostras de leite aquecido a 69-70°C, de massa básica antes da fusão e de requeijão cremoso após 1, 45 e 90 dias de fabricação. Os resultados demonstraram que o requeijão cremoso pode alcançar uma vida útil de 90 dias desde que se utilize matéria-prima apresentando números reduzidos de células vegetativas e principalmente de esporos. Além disso, deve-se controlar rigorosamente as temperaturas de tratamento do leite, de fusão da massa básica e de estocagem do produto e observar as boas práticas de higiene durante todo o processamento, para desta forma garantir a inocuidade e a segurança do produto.

Palavras-chave: análise, microbiologia, requeijão cremoso.

1-INTRODUÇÃO

O requeijão cremoso é o representante brasileiro mais conhecido e de maior consumo da classe dos queijos fundidos, processados e pasteurizados. O valor comercial deste produto para o setor lácteo é demonstrado pelo aumento da produção de 9.350 toneladas em 1991 para 34.000 toneladas em 2005, representando

¹ Pesquisador científico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Laticínios – Tecnotat, Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Campinas – SP.

* darlila@ital.sp.gov.br

363,64% (ABIQ, 2005). É um produto obtido por fusão de uma massa coalhada (ácida ou enzimática), dessorada e lavada, com adição de creme de leite e/ou manteiga e/ou gordura anidra de leite ou *butter oil* (BRASIL, 1997). O produto poderá ser adicionado de condimentos, especiarias e/ou outras substâncias alimentícias (BRASIL, 1997). Sua composição consiste em 58-60% de água, 24-27% de gordura, 9-11% de proteína, 1-2% de carboidratos e 1-1,5% de NaCl (VAN DENDER, 2006).

A estabilidade microbiológica do requeijão cremoso, desde que observadas as condições microbiológicas das matérias-primas utilizadas, é devida ao seu processo de fabricação, onde temperaturas elevadas são necessárias para a fusão da massa. Segundo o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Leite e Produtos Lácteos (BRASIL, 1997), o requeijão deverá ser submetido a aquecimento mínimo de 80°C durante 15 segundos ou qualquer outra combinação equivalente. Na prática, a mistura é aquecida a 65-70°C por 5 minutos, sob vácuo e agitação constante. A seguir, a temperatura é elevada para 75-80°C por 3 minutos e, finalmente 92-95° C por 2 minutos (VAN DENDER, 2006).

Esses tratamentos são suficientes para a destruição dos microrganismos patogênicos, eventualmente presentes, mas não são bastante para todas as formas vegetativas e, nem tampouco, às esporuladas. Portanto, a deterioração microbiológica do requeijão será observada somente em condições anormais, tais como crescimento de microrganismos sobreviventes pelo uso de temperaturas de refrigeração inadequadas, germinação de esporos e crescimento em produtos apresentando condições adequadas de acidez e concentração salina e crescimento de mofos por falhas na etapa de envase e prevalência de condições de oxigênio no produto (MORENO et al., 2006).

Portanto para se obter um requeijão cremoso microbiologicamente estável, o controle da matéria-prima é extremamente importante de forma a manter um número reduzido de esporos. Métodos de limpeza e sanificação de ambiente e equipamentos; boas práticas de fabricação durante o processamento; aplicação de adequados tratamentos térmicos, bem como cuidados durante a embalagem são fatores que também devem ser controlados para garantir a qualidade e segurança do produto final (MORENO et al., 2006). Existem várias maneiras de se evitar a germinação de esporos, tais como a utilização de conservadores, a esterilização do queijo e o

aumento do potencial de oxi-redução da mistura, dentre outros (CARIC; KALAB, 1987). No presente trabalho, objetivou-se determinar a estabilidade microbiológica de requeijão cremoso durante o processamento e estocagem a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ por 90 dias.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção dos requeijões cremosos:

A massa básica foi obtida de acordo com a metodologia descrita por Fernandes (1980), através da precipitação de leite desnatado aquecido a $69-70^\circ\text{C}$, adicionado de 0,3% de ácido láctico diluído. Após agitação e repouso a massa foi dessorada, lavada, enformada e prensada. Para obtenção dos requeijões cremosos foram adicionados à massa antes de iniciar o processo de fusão, creme de leite, cloreto de sódio (1,5%), sal fundente (2,5% JOHA S9) e água destilada, para obter produtos contendo aproximadamente 60% de gordura no extrato seco e 37% de extrato seco total. Os requeijões cremosos foram submetidos ao processo de fusão em duas etapas, na primeira por 70°C por 5 minutos e na segunda etapa por $87-90^\circ\text{C}$ durante 3 minutos. Os requeijões obtidos foram envasados em copos de vidro (RC) resfriados e acondicionados em câmara de estocagem ($4\pm 2^\circ\text{C}$).

2.2. Determinações microbiológicas:

Foram avaliadas amostras de leite desnatado aquecido a $69-70^\circ\text{C}$, da massa e do requeijão cremoso após a fabricação (1 dia) e durante o período de estocagem (45 e 90 dias). Estas amostras foram preparadas para análises microbiológicas segundo procedimentos do *Standard Methods for the Examination of Dairy Products* (APHA, 2004). Bactérias esporogênicas aeróbias foram avaliadas pelo plaqueamento de amostras, previamente tratadas a 80°C por 15 minutos (mesófilas) e a 100°C por 10 minutos (termófilas), em ágar PCA, adicionado de 0,1% de amido solúvel, a $32^\circ\text{C}/48$ horas (mesófilas) e a $50^\circ\text{C}/48$ horas (termófilas) (APHA, 2004). Bactérias esporogênicas anaeróbias foram determinadas pela técnica do número mais provável (NMP), segundo (BERGÈRE; SIVELÄ, 1990). Amostras, previamente tratadas a 80°C por 15 minutos, foram inoculadas em leite desnatado a 10% e incubadas a $35^\circ\text{C}/7$ dias (mesófilas) e a $7^\circ\text{C}/7$ dias (psicrotróficas). A condição de anaerobiose foi obtida pela adição de ágar selo ao meio. O método NMP foi também utilizado para a determinação

de coliformes (APHA, 2004). O teste presuntivo foi realizado em Caldo LST (lauril sulfato triptose) a 36°C/24-48 horas. Coliformes totais foram determinados em Caldo verde brilhante a 37°C por 48 horas e os coliformes fecais em caldo EC-MUG a 45,5°C por 24 horas. A presença de *Escherichia coli* no caldo EC-MUG, apresentando crescimento e com ou sem a produção de gás no tubo de Durhan, foi confirmada pela formação de fluorescência azul, após observação sob lâmpada de luz ultravioleta, de 3 a 6 W e ondas longas de 365 nm em uma cabine escura. Bolores e Leveduras foram avaliados pelo plaqueamento das amostras em superfície em ágar batata dextrose (PDA), acidificado com ácido tartárico 10%, a 25°C durante 5 dias (APHA, 2004).

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

As avaliações microbiológicas dos leites desnatados, das massas e dos requeijões cremosos, referentes aos três processamentos, quanto às contagens de microrganismos indicadores (coliformes totais e fecais) e deteriorantes (esporogênicos aeróbios e anaeróbios e bolores e leveduras) estão apresentadas nas Tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1. Resultados das análises microbiológicas realizadas no Leite, Massa e Requeijão Cremoso do primeiro Processamento (P1).

Análises Microbiológicas	Leite (*)	Massa (**)	Requeijão Cremoso 01dia (**)	Requeijão Cremoso 45dias (**)	Requeijão Cremoso 90dias (**)
Coliformes a 30-35°C (NMP)	< 0,3	< 3	< 3	< 3	< 3
Coliformes a 45°C (NMP)	< 0,3	< 3	< 3	< 3	< 3
Bolores e leveduras (UFC)	< 0,3	2,8 x 10 ³	< 10	< 10	< 10
B. E. A. M. ⁽¹⁾ (UFC)	< 0,3	5,4 x 10 ⁴	4,0 x 10 ⁴	5,0 x 10 ¹	6,0 x 10 ¹
B. E. A. T. ⁽²⁾ (UFC)	< 10	3,9 x 10 ⁴	8 x 10 ⁴	< 10	< 10
B. E. Ana. M. ⁽³⁾ (NMP)	0,9	21	9	< 3	< 3
B. E. Ana. P. ⁽⁴⁾ (NMP)	< 0,3	< 3	< 3	< 3	< 3

NMP – Número mais provável; UFC – Unidade formadora de colônia; ⁽¹⁾ Bactérias Esporogênicas Aeróbias Mesófilas;

⁽²⁾ Bactérias Esporogênicas Aeróbias Termófilas; ⁽³⁾ Bactérias Esporogênicas Anaeróbias Mesófilas; ⁽⁴⁾ Bactérias Esporogênicas Anaeróbias Psicrotólicas; (*) resultados em mililitros (mL⁻¹); (**) resultados em gramas (g⁻¹)

Tabela 2. Resultados das análises microbiológicas realizadas no Leite, Massa e Requeijão Cremoso do Segundo Processamento (P2).

Análises Microbiológicas	Leite	Massa	Requeijão Cremoso 01dia	Requeijão Cremoso 45dias	Requeijão Cremoso 90dias
Coliformes a 30-35°C (NMP)	< 0,3	< 3	< 3	< 3	< 3
Coliformes a 45°C (NMP)	< 0,3	< 3	< 3	< 3	< 3
Bolores e leveduras (UFC)	1,4 x 10 ²	2,5 x 10 ³	4,0 x 10 ²	1,9 x 10 ²	1,5 x 10 ²
B. E. A. M. ⁽¹⁾ (UFC)	1,7 x 10 ²	2,7 x 10 ²	2,3 x 10 ²	1,8 x 10 ²	6,0 x 10 ¹
B. E. A T. ⁽²⁾ (UFC)	9,0 x 10 ¹	7,0 x 10 ¹	< 10	< 10	< 10
B. E. Ana. M. ⁽³⁾ (NMP)	0,7	7	< 3	< 3	< 3
B. E. Ana. P. ⁽⁴⁾ (NMP)	< 0,3	< 3	< 3	< 3	< 3

NMP – Número mais provável ; UFC – Unidade formadora de colônia; ⁽¹⁾ Bactérias Esporogênicas Aeróbias Mesófilas;

⁽²⁾ Bactérias Esporogênicas Aeróbias Termófilas; ⁽³⁾ Bactérias Esporogênicas Anaeróbias Mesófilas; ⁽⁴⁾ Bactérias Esporogênicas Anaeróbias Psicrófilas; ^(*) resultados em mililitros (mL⁻¹); ^(**) resultados em gramas (g⁻¹)

Tabela 3. Resultados das análises microbiológicas realizadas no Leite, Massa e Requeijão Cremoso do terceiro Processamento (P3).

Análises Microbiológicas	Leite (*)	Massa (**)	Requeijão Cremoso 01dia (**)	Requeijão Cremoso 45dias (**)	Requeijão Cremoso 90dias (**)
Coliformes a 30-35°C (NMP)	< 0,3	< 3	< 3	< 3	< 3
Coliformes a 45°C (NMP)	< 0,3	< 3	< 3	< 3	< 3
Bolores e leveduras (UFC)	< 0,3	6,0 x 10 ²	< 10	< 10	< 10
B. E. A. M. ⁽¹⁾ (UFC)	1,5 x 10 ¹	0,9 x 10 ¹	3,8 x 10 ²	< 10	< 10
B. E. A T. ⁽²⁾ (UFC)	0,5 x 10 ¹	0,8 x 10 ¹	< 10	< 10	< 10
B. E. Ana. M. ⁽³⁾ (NMP)	0,4	< 3	< 3	< 3	< 3
B. E. Ana. P. ⁽⁴⁾ (NMP)	< 0,3	< 3	< 3	< 3	< 3

NMP – Número mais provável; UFC – Unidade formadora de colônia; ⁽¹⁾ Bactérias Esporogênicas Aeróbias Mesófilas;

⁽²⁾ Bactérias Esporogênicas Aeróbias Termófilas; ⁽³⁾ Bactérias Esporogênicas Anaeróbias Mesófilas; ⁽⁴⁾ Bactérias Esporogênicas Anaeróbias Psicrófilas; ^(*) resultados em mililitros (mL⁻¹); ^(**) resultados em gramas (g⁻¹)

Avaliando-se os resultados das análises microbiológicas verifica-se que não foi detectada a presença de coliformes totais ou fecais nas amostras de leite desnatado aquecido (69-70°C), o que indica que o tratamento térmico foi conduzido de forma adequada. Da mesma forma, não foi detectada a presença destes indicadores nas massas obtidas, o que indica manipulação adequada, de acordo com as boas práticas de higiene durante a fabricação. A presença de microrganismos indicadores (coliformes totais) na massa é normalmente controlada pelo tratamento térmico utilizado durante o processamento do requeijão cremoso. Portanto, os requeijões cremosos obtidos apresentam níveis abaixo dos limites toleráveis estabelecidos pelo Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Requeijão ou Requesón, Portaria/MA nº 359 (BRASIL 1997).

No processo de fusão o tratamento térmico empregado não é suficiente para destruir todas as formas vegetativas e esporos. Portanto, é necessário utilizar matéria-prima de excelente qualidade microbiológica e controlar todas as etapas de processamento de forma a garantir a qualidade e segurança do produto.

A presença de bolores e leveduras foi observada nas massas dos requeijões em todos os processamentos, variando de $6,0 \times 10^2$ a $2,8 \times 10^3$. No entanto não foi observada a presença destes no requeijão cremoso durante a estocagem dos produtos obtidos nos processamentos 1 e 3, somente no processamento 2. Contudo, não ocorreu um crescimento destes microrganismos durante a estocagem, significando uma adequada condição de armazenamento.

Normalmente, os bolores e leveduras são destruídos no processo de fusão da massa, durante a fabricação do requeijão cremoso. No processamento 2 pode ter ocorrido pós-contaminação provavelmente no processo de embalagem. No requeijão cremoso obtido no processamento 2 observou-se a sua permanência após 1 dia de fabricação, a qual manteve-se estável nas condições de armazenamento. No entanto, os valores de bolores e leveduras encontrados no requeijão cremoso não oferecem risco ao produto e à saúde do consumidor, e estão abaixo dos limites estabelecidos pela legislação de no máximo 10^3 UFC/g (BRASIL, 1997).

Durante o manuseio na fase final de processamento e na estocagem pode ocorrer a recontaminação do requeijão. Alguns bolores são psicrotróficos e seus esporos sobrevivem e germinam em condições favoráveis. Temperaturas de refrigeração inibem o desenvolvimento de bolores, mas não são capazes de destruí-los e também a anaerobiose, ou seja, uma atmosfera desprovida de oxigênio pode melhorar a conservação do produto. Os tratamentos de prevenção visando reduzir as fontes de contaminação estão relacionados com as medidas de higiene, que tendem a limitar o desenvolvimento de bolores e leveduras. Recomenda-se uma higiene rigorosa das embalagens, bem como dos locais de fabricação, armazenamento e envase para evitar o crescimento de tais contaminantes. Cuidados devem ser tomados durante o envase do requeijão para evitar o desenvolvimento de bolores e leveduras, tais como: envase a quente, redução do espaço interno vazio entre o produto e a tampa e garantir que a quantidade remanescente de oxigênio seja pequena. Após o envase o resfriamento deverá ser o mais rápido possível à temperatura inferior a 10°C (MORENO; VIALTA, 2000; MORENO et al. 2002).

Foi detectada a presença de bactérias esporogênicas aeróbias mesófilas em todas as amostras de RC após um dia de fabricação, variando de $2,3 \times 10^2$ e $4,0 \times 10^4$. Contudo, tais índices diminuíram durante o período de estocagem (45 e 90 dias), e nenhuma alteração foi observada nos requeijões cremosos mantidos a 4°C durante os 90 dias, o que comprova o trabalho desenvolvido por SILVA (2003) onde observaram contagens de esporulados mesófilos entre $4,1 \times 10^2$ e $1,3 \times 10^3$ esporos/g e não foi observada nenhuma alteração no requeijão cremoso acondicionado em copo (VAF) durante 60 dias de estocagem a 2-4°C. MUIR et al. (1999) também observaram que contagens de microrganismos mesófilos de $2,4 \times 10^3$ UFC/g não levaram a alterações sensoriais em um tipo de queijo processado análogo com substitutos de gordura.

Em certas condições pode ocorrer crescimento de esporulados aeróbios como o *B. subtilis* e *B. mesentericus*, e de esporulados anaeróbios como espécies de *Clostridium*. Microrganismos do gênero *Clostridium* são os responsáveis pelo estufamento tardio em queijos, o que ocorre de 10 dias até 2 meses após o processamento. A espécie *C. sporogenes* é a mais comum causadora de problemas em queijos processados, pela produção de gás e putrefação. As principais formas de evitar o problema de *Clostridium* no requeijão cremoso são: evitar ou prevenir a

contaminação do leite cru com estes microrganismos, eliminar os esporos do leite por bactofugação e usar polifosfatos inibidores (MORENO; VIALTA, 2000).

No processo de fusão o tratamento térmico empregado não é suficiente para destruir todas as formas vegetativas e esporos. Portanto, é necessário utilizar matéria-prima de excelente qualidade microbiológica e controlar todas as etapas de processamento de forma a garantir a qualidade e segurança do produto.

Atualmente, os leites crus têm sido mantidos por longos períodos sob refrigeração, o que favorece o desenvolvimento de microrganismos psicrotróficos, que embora sejam destruídos posteriormente pelo tratamento térmico produzem enzimas lipolíticas e/ou proteolíticas termoresistentes, que podem causar problemas de odor, sabor e textura em produtos lácteos (MORENO; VIALTA, 2000).

Nos requeijões cremosos não foi detectada a presença de microrganismos esporogênicos anaeróbios psicrotróficos, indicando a boa qualidade da matéria-prima, e garantindo a qualidade do produto ao longo do período de estocagem a frio.

4 - CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que o requeijão cremoso pode alcançar uma vida útil de 90 dias desde que se utilize matéria-prima apresentando números reduzidos de células vegetativas e principalmente de esporos, que as temperaturas de fusão e de estocagem sejam rigorosamente controladas. Além disso, deve-se observar as boas práticas de higiene durante todo o processamento, garantindo desta forma a inocuidade e a segurança do produto.

5 – SUMMARY

Requeijão cremoso is the most consumed and most well-known representative of the heat-treated, processed and pasteurized cheese category in Brazil. Its production and consumption have significantly increased over the last years. Besides the microbiological quality of the raw materials, the microbiological stability of *requeijão cremoso* is mainly the result of the high temperatures of the melting process to which the fresh curds are subjected during manufacture. For the purpose of this study, three batches of *requeijão cremoso* were prepared specifically to determine the microbiological stability of the product during 90 days storage at 4°C. Microbiological tests were performed on samples of: (1) milk heated to 69-70°C; (2) fresh curds prior to melting, and (3) *requeijão cremoso* 1, 45 and 90 days from the date of manufacture. The results show that *requeijão cremoso* may have a shelf-life of 90 days provided that raw materials containing low numbers of vegetative cells and mainly spores are used. The temperatures used in heat treatment, fresh curd-melting and cold storage of the finished product should be strictly controlled and Good Manufacturing Practices should be followed throughout the manufacturing process as a whole in order to ensure the innocuity and safety of the product.

Keywords: analysis, microbiology, requeijão cremoso.

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIQ. **Produção brasileira de produtos lácteos de estabelecimentos sob inspeção federal**. São Paulo, 2005.

APHA, 2004. **Standard methods for the microbiological examination of dairy products**. 17th ed. American Public Health Association Washington, D.C.

BERGÈRE, J. L.; SIVELÄ, S. Detection and enumeration of clostridial spores related to cheese quality. Classical and new methods. **Bulletin of International of Dairy Federation**, n.251, p.18-23, 1990.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de Requeijão cremoso ou Requesón**. Portaria nº 359. Brasília: Ministério da Agricultura. 1997.

CARIC, M.; KALAB, M. Processed cheese product. In: FOX, P. F. **Cheese chemistry, physics and microbiology**. New York: Elsevier Applied Science, 1987. v.2, cap. 11, p.339-393.

FERNANDES, A. G. MARTINS, J. F. P. Fabricação de requeijão cremoso a partir de massa obtida por precipitação ácida a quente do leite de búfala e de vaca. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.35, n.212, p. 7-13, 1980.

MORENO, I.; VIALTA, A. **Queijos processados: Qualidade microbiológica da matéria prima e do produto final**. In: SEMINÁRIO SOBRE REQUEIJÃO CREMOSO E OUTROS QUEIJOS FUNDIDOS. ASPECTOS DE QUALIDADE, PROCESSAMENTO, ROTULAGEM, LEGISLAÇÃO E MERCADO. Campinas: ITAL, 2000. Cap. 6, p. 1-23.

MORENO, I.; VIALTA, A.; VALLE, J. L. E. Microrganismos responsáveis pelas principais deteriorações do requeijão e outros queijos fundidos. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, n. 41, p.72-75. 2002.

MORENO, I.; VIALTA, A.; VAN DENDER, A. G. F.; SILVA e ALVES, A. T.; SPADOTI, L. M. Impacto da Qualidade da matéria-prima no produto final. In: VAN DENDER, A. G. F. **Requeijão cremoso e outros queijos fundidos: Tecnologia de fabricação, controle de processo e aspectos de mercado**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora Ltda, 2006. Cap. 4, p. 75-126.

MUIR, D. D.; TAMIME, A. Y.; SHENANA, M. E. e DAWOOD, A. H. Processed Cheese Analogues Incorporating Fat-Substitutes. 1. Composition, Microbiological Quality and Flavour Changes During Storage at 5° C. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, Berlin, v.32, n.1, p.41-49, 1999/2, 1999.

SILVA, A. T. Fabricação de requeijão cremoso e de requeijão cremoso “light” a partir de retentado de ultrafiltração acidificado por fermentação ou adição de ácido láctico. Campinas, 2003. 237 p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) – FEA-UNICAMP.

VAN DENDER, A. G. F. Requeijão cremoso e outros queijos fundidos: Tecnologia de fabricação, controle de processo e aspectos de mercado. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora Ltda, 2006. 391p.