



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**ESTABILIDADE DE REQUEIJÃO CREMOSO EM
DIFERENTES EMBALAGENS COM E
SEM EXPOSIÇÃO À LUZ**

Rosa Maria Vercelino Alves
Engenheira de Alimentos, M. Sc.

Dra. Ariene Gimenes Fernandes Van Dender
Orientadora

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do título de Doutor em Tecnologia de Alimentos

Campinas, SP
2004

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

Alves, Rosa Maria Vercelino
AL87e Estabilidade de requeijão cremoso em diferentes embalagens
com e sem exposição à luz / Rosa Maria Vercelino Alves. –
Campinas, SP: [s.n.], 2004.

Orientador: Ariene Gimenes Fernandes Van Dender
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Embalagens. 2.Queijo. 3.Vida útil. I. Van Dender, Ariene
Gimenes Fernández. II.Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

BANCA EXAMINADORA

Dra. Ariene Gimenes Fernandes Van Dender
Centro de Pesquisa & Desenvolvimento de Laticínios – TECNOLAT/ITAL
Orientadora

Dra. Leda Coltro
Centro de Pesquisa & Desenvolvimento de Embalagens – CETEA/ITAL
Membro

Dr. Antônio Carlos Dantas Cabral
Escola de Engenharia Mauá / Instituto Mauá de Tecnologia
Membro

Prof. Dr. José de Assis Fonseca Faria
Faculdade de Engenharia de Alimentos - FEA/UNICAMP
Membro

Prof. Dr. Walquíria Viotto
Faculdade de Engenharia de Alimentos - FEA/UNICAMP
Membro

Dra. Izildinha Moreno
Centro de Pesquisa & Desenvolvimento de Laticínios – TECNOLAT/ITAL
Membro

Prof. Dr. Salvador Massaguer Roig
Faculdade de Engenharia de Alimentos - FEA/UNICAMP
Membro

DEDICATÓRIA

Aos meus dois amores, Fernando e André, pelos momentos que deixamos de passar juntos.

À minha querida sogra Mariinha, pelo apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com a colaboração de várias pessoas para as quais agradeço a seguir.

Ao ITAL - Instituto de Tecnologia de Alimentos, e ao CETEA – Centro de Pesquisa & Desenvolvimento de Embalagens, pelo apoio para a realização da tese de doutorado.

À FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela aprovação de projeto de pesquisa que possibilitou a aquisição de matéria-prima, reagentes, equipamentos e materiais fundamentais à realização desta pesquisa.

Ao CNPq-PIBIC e FAPESP pela concessão de bolsas para vários bolsistas.

Às empresas Nadir Figueiredo, Owens-Illinois do Brasil, Poly Vac e Alcan Packaging, pelo fornecimento das embalagens e às empresas que, além da embalagens, também forneceram ou emprestaram os equipamentos de fechamento, Metalgráfica Rojek e Globalpack.

À minha orientador Ariene, pela sugestão do tema de tese, confiança e ajuda durante a condução do trabalho.

À pesquisadora Sandra, minha grande parceira, desde a busca de fornecedores de embalagem, processamentos, definição de ensaios, organização de resultados, relatórios e publicações, além de amiga e confidente em inúmeros momentos de desabafos.

À minha gerente Eloísa, pela oportunidade e pela valiosa ajuda no delineamento do trabalho e sugestões na avaliação e discussão dos resultados.

Aos membros da banca examinadora, Cabral, Leda, Izildinha, Walquíria, Assis e Salvador, pelas valiosas contribuições, que muito enriqueceram este trabalho.

À especialista de laboratório Danielle e às assistentes técnicas Christiane, Rose e Vânia pela colaboração na realização de análises.

Aos bolsistas do CETEA, Cíntia, Luana, Edu, Fabiana, Paula e Áurea, pela colaboração e dedicação na realização de análises e tratamento de dados, durante o projeto e, em especial à Beatriz, que participou até a preparação da tese.

Às bolsistas do TECNOLAT, Mariana, Vanessa, Beatriz, Andréia, Cristina e Eliana pela colaborações na realização dos ensaios referentes ao produto.

Às parceiras de doutorado em Tecnologia de Laticínios, Adriana e Darlila, pela colaboração nos processamentos, sugestões e apoio em todas as etapas.

A todos que colaboraram durante os processamentos de requeijão, muitos já mencionados, e outros como Leandro, José Rubens, Bráz, Jorge, José Carlos, Aparecido e em especial ao Audévio ("Dé"), aos quais agradeço o esforço durante os cinco processamentos, necessários para a realização desta pesquisa.

A todos os provadores de requeijão, que com paciência e dedicação compareceram às inúmeras sessões de avaliação sensorial do produto.

À Nilda, pela assessoria na análise estatística dos dados.

À colaboração de Patrícia e Gabriela na editoração da tese, à Ana Cândida na busca de referências e à Marta na elaboração das referências e citações bibliográficas.

À amiga Bete, pela companhia durante as aulas, provas e trabalhos das disciplinas cursadas e também pelo grande incentivo e apoio.

Ao pesquisador Maurício, meu companheiro de sala, por ouvir meus desabafos durante os últimos quatro anos.

Ao meu esposo Fernando, pelo amor, força e compreensão nas minhas ausências e nos meus momentos de dificuldades.

À todos os amigos do CETEA, pelo grande apoio e amizade, e à todos que direta ou indiretamente, participaram e colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho, MUITO OBRIGADA.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Fabricação de queijos processados /requeijão cremoso	3
2.1.1 Fabricação de queijo processado em geral	3
2.1.2 Fabricação de requeijão cremoso	4
2.2 Estabilidade de queijos processados	7
2.3 Efeito da exposição à luz na estabilidade de produtos lácteos	9
2.3.1 Reações químicas induzidas pela luz	9
2.3.2 Parâmetros que afetam a fotossensibilidade	11
2.4 Tipos e características de embalagens utilizadas para requeijão cremoso	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1 Embalagens	30
3.1.1 Descrição	30
3.1.2 Ensaio de caracterização das embalagens	32
3.2 Requeijão cremoso	36
3.2.1 Processamento	36
3.2.2 Acondicionamento do produto e fechamento das embalagens	36
3.2.3 Ensaio de caracterização inicial do produto	38
3.3 Estudo de estabilidade do produto no escuro	42
3.3.1 Análises periódicas das embalagens	43
3.3.2 Análises periódicas do produto	44
3.4 Estudo de estabilidade do produto sob exposição à luz	48
3.4.1 Estudo preliminar	48
3.4.2 Estudos completos	50
3.5 Análise estatística	51
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4.1 Caracterização das embalagens	53
4.2 Caracterização dos produtos	60
4.2.1 Análises microbiológicas	60
4.2.2 Análises físico-químicas	68
4.3 Estudo da estabilidade do produto no escuro	72
4.3.1 Análises periódicas das embalagens	72
Peso líquido e vácuo	72
Volume e composição gasosa do espaço-livre	74
4.3.2 Análises periódicas do produto	81
Análises microbiológicas	81
Análises físico-químicas	84
Análises sensoriais	92

4.3.3 Conclusões – Estabilidade do requeijão cremoso na ausência de luz.....	99
4.4 Estudo da estabilidade do produto sob exposição à luz	101
4.4.1 Estudo preliminar	101
4.4.1.1. Análises periódicas das embalagens	101
Peso líquido e vácuo.....	101
Volume e composição gasosa do espaço-livre	101
4.4.1.2 Análises periódicas do produto.....	104
Análises microbiológicas.....	104
Análises físico-químicas.....	105
Análises sensoriais	107
4.4.1.3 Conclusões preliminares – Estabilidade do produto sob exposição à luz.....	109
4.4.2 Estudos completos.....	109
4.4.2.1 Análises periódicas das embalagens	109
Peso líquido e vácuo.....	109
Volume e composição gasosa do espaço-livre	111
4.4.2.2 Análises periódicas do produto.....	120
Análises microbiológicas.....	120
Análises físico-químicas.....	122
Análises sensoriais	126
4.4.2.3 Conclusões – Estabilidade do produto com exposição à luz	135
5 CONCLUSÕES	137
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	139
7 ANEXOS	
Análises microbiológicas do produto durante estocagem.....	150
Análises estatísticas – qualidade global.....	170

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 3.1 Embalagens de requeijão avaliadas.....	31
TABELA 3.2 Vocabulário com definições dos termos sensoriais.	47
TABELA 3.3 Intensidade de luz nas prateleiras dos supermercados de Campinas.	48
TABELA 4.1 Características dimensionais, peso e capacidade volumétrica das embalagens.....	54
TABELA 4.2 Distribuição de espessura das embalagens.	55
TABELA 4.3 Gramaturas dos selos à base de folha de alumínio utilizados no copo VS e Pote PP.....	56
TABELA 4.4 Caracterização das embalagens quanto às taxas de transmissão ao oxigênio e ao vapor d'água.	57
TABELA 4.5 Caracterização microbiológica do leite cru, do leite tratado a 80°C e da massa do 1º e 2º Processamentos de requeijão cremoso.....	62
TABELA 4.6 Caracterização microbiológica do leite cru, do leite tratado a 80°C e da massa do 3º ao 5º Processamentos de requeijão cremoso.....	63
TABELA 4.7 Caracterização microbiológica do requeijão cremoso logo após o acondicionamento do produto nas embalagens – 1º e 2º Processamentos.....	66
TABELA 4.8 Caracterização microbiológica do requeijão cremoso logo após o acondicionamento do produto nas embalagens – 3º ao 5º Processamentos.....	67
TABELA 4.9 Caracterização físico-química do requeijão cremoso logo após o acondicionamento do produto nas embalagens – 1º e 2º Processamentos.....	70
TABELA 4.10 Caracterização físico-química do requeijão cremoso logo após o acondicionamento do produto nas embalagens – 3º ao 5º Processamentos.	71
TABELA 4.11 Peso líquido de requeijão nas embalagens do 1º e 2º Processamentos.	73
TABELA 4.12 Vácuo nos copos VAF durante a estocagem na ausência de luz do 1º e 2º Processamentos.....	74

TABELA 4.13 Quantidade de oxigênio no espaço-livre das embalagens ao longo da estocagem na ausência de luz.	77
TABELA 4.14 Contagens máximas de microrganismos no requeijão cremoso ao longo da estocagem do 1º e 2º Processamento.	83
TABELA 4.15 Valores médios de pH e acidez do requeijão cremoso ao longo da estocagem do 1º e 2º Processamentos.	86
TABELA 4.16 Valores médios de extrato seco total (EST) e atividade de água do requeijão cremoso ao longo da estocagem do 1º e 2º Processamentos.....	87
TABELA 4.17 Valores médios de nitrogênio solúvel e índice de extensão de proteólise do requeijão cremoso ao longo da estocagem do 1º e 2º Processamentos.	88
TABELA 4.18 Peso líquido de requeijão e volume de gases do espaço-livre das embalagens do 3º Processamento.....	101
TABELA 4.19 Quantidade de oxigênio no espaço-livre das embalagens no início da estocagem sob 1000lux e 10°C – 3º Processamento.....	102
TABELA 4.20 Contagens máximas de microrganismos no requeijão cremoso ao longo da estocagem do 3º Processamento.....	105
TABELA 4.21 Valores médios de pH, nitrogênio solúvel e índice de extensão de proteólise do requeijão cremoso sob 1000lux a 10°C – 3º Processamento.....	106
TABELA 4.22 Peso líquido de requeijão nas embalagens do 4º e 5º Processamentos.	110
TABELA 4.23 Vácuo nos copos VAF ao longo da estocagem do 4º e 5º Processamentos a 10°C sob 1000lux e no escuro	111
TABELA 4.24 Quantidade de oxigênio no espaço-livre das embalagens no início da estocagem do 4º e 5º Processamentos.	114
TABELA 4.25 Redução do volume de oxigênio disponível no espaço-livre das embalagens ao longo da estocagem do 4º e 5º Processamentos.....	118
TABELA 4.26 Contagens máximas de microrganismos no requeijão cremoso ao longo da estocagem do 4º e 5º Processamentos.	121

TABELA 4.27 Valor médio de pH, nitrogênio solúvel e índice de extensão de proteólise do requeijão cremoso ao longo da estocagem do 4º e 5º Processamentos.	123
TABELA 4.28 Estimativa de vida útil a 10°C e sob luz do requeijão cremoso nas diferentes embalagens através dos resultados obtidos de perda de qualidade global no 4º e 5º Processamentos.....	133

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 2.1 Reações fotoquímicas e de troca de energia na presença de riboflavina.	10
FIGURA 2.2 Espectros de transmissão de luz de (a) PET e (b) PVC sem e com absorvedores de luz UV.	15
FIGURA 2.3 Espectros de transmissão de luz de (a) PVC – 0,45mm sem e com pigmentação e (b) embalagens de iogurte – PS e vidro com e sem pigmentação.....	16
FIGURA 2.4 Espectros de transmissão de luz de uma embalagem flexível de estrutura OPA/PE sem e com pigmentação.....	17
FIGURA 2.5 Espectros de emissão de luz solar.	18
FIGURA 2.6 Espectros de emissão de diferentes lâmpadas fluorescentes.....	18
FIGURA 2.7 Espectro de absorção de luz da riboflavina e do β -caroteno	19
FIGURA 3.1 Representação esquemática do copo VAF com (a) Ø74mm utilizado no 1º processamento e (b) com Ø67mm utilizado a partir do 2º processamento, indicando as grandezas dimensionais e os planos de medição da espessura da parede.....	32
FIGURA 3.2 Representação esquemática do copo VS com (a) Ø74mm utilizado no 1º processamento e com (b) Ø67mm utilizado a partir do 2º processamento, indicando as grandezas dimensionais e os planos de medição da espessura da parede.....	33
FIGURA 3.3 Representação esquemática do pote de PP , indicando as grandezas dimensionais e os planos de medição da espessura da parede.....	33
FIGURA 3.4 Representação esquemática das bisnagas Coex e PE , indicando as grandezas dimensionais e os planos de medição da espessura da parede.....	33
FIGURA 3.5 Fluxograma geral das etapas de fabricação de requeijão cremoso, a partir de massa obtida pela acidificação direta a quente.	37
FIGURA 3.6 Ficha utilizada na análise sensorial do requeijão cremoso.....	47
FIGURA 3.7 Ilustração das embalagens dispostas na prateleira.....	50

FIGURA 3.8 Ilustração dos copos VAF posicionados de forma invertida na prateleira.	51
FIGURA 4.1 Espectros de transmissão de luz das embalagens analisadas.....	59
FIGURA 4.2 Volume do espaço-livre das embalagens de requeijão cremoso estocadas à (a) 10°C e (b) 4°C – 1º Processamento e (c) 10°C e (d) 4°C – 2º Processamento.	75
FIGURA 4.3 Teor de oxigênio no espaço-livre das embalagens de requeijão cremoso estocadas à (a) 10°C e (b) 4°C – 1º Processamento e (c) 10°C e (d) 4°C – 2º Processamento.	78
FIGURA 4.4 Volume de oxigênio (mL a 25°C e 0,94atm) no espaço-livre das embalagens de requeijão cremoso ao longo da estocagem à (a) 10°C e (b) 4°C – 2º Processamento.....	81
FIGURA 4.5 Variação do índice de TBA a 450nm do requeijão cremoso ao longo da estocagem à (a) 10°C e (b) 4°C – 1º Processamento e (c) 10°C e (d) 4°C – 2º Processamento.	90
FIGURA 4.6 Variação do índice de TBA a 532nm do requeijão cremoso ao longo da estocagem à (a) 10°C e (b) 4°C – 2º Processamento.....	91
FIGURA 4.7 Perda de odor característico do requeijão cremoso ao longo da estocagem à (a) 10°C e (b) 4°C – 1º Processamento e (c) 10°C e (d) 4°C – 2º Processamento.	94
FIGURA 4.8 Perda de sabor característico do requeijão cremoso ao longo da estocagem à (a) 10°C e (b) 4°C – 1º Processamento e (c) 10°C e (d) 4°C – 2º Processamento.	95
FIGURA 4.9 Desenvolvimento de sabor de ranço no requeijão cremoso ao longo da estocagem à (a) 10°C e (b) 4°C – 1º Processamento e (c) 10°C e (d) 4°C – 2º Processamento.	96
FIGURA 4.10 Perda de qualidade global no requeijão cremoso ao longo da estocagem à (a) 10°C e (b) 4°C – 2º Processamento.....	96
FIGURA 4.11 Teor de oxigênio no espaço-livre das embalagens de requeijão cremoso ao longo da estocagem sob 1000lux e 10°C – 3º Processamento.....	103

FIGURA 4.12 Volume de oxigênio (mL a 25°C e 0,94atm) no espaço-livre das embalagens de requeijão cremoso ao longo da estocagem sob 1000lux e 10°C – 3° Processamento.....	103
FIGURA 4.13 Variação do índice de TBA a 532nm do requeijão cremoso estocado a 10°C sob 1000lux – 3° Processamento.	106
FIGURA 4.14 Perda de (a) odor característico, (b) sabor característico, (c) desenvolvimento de ranço e (d) perda de qualidade global do requeijão cremoso estocado sob 1000lux a 10°C – 3° Processamento.....	108
FIGURA 4.15 Volume do espaço-livre das embalagens de requeijão cremoso ao longo da estocagem sob (a) 1000lux e (b) no escuro - 4° Processamento e (c) sob 1000lux e (d) no escuro - 5° Processamento.	112
FIGURA 4.16 Teor de oxigênio no espaço-livre das embalagens de requeijão cremoso ao longo da estocagem (a) sob 1000lux e (b) no escuro - 4° Processamento e (c) sob 1000lux e (d) no escuro - 5° Processamento.....	115
FIGURA 4.17 Volume de oxigênio (mL a 25°C e 0,94atm) no espaço-livre das embalagens de requeijão cremoso ao longo da estocagem (a) sob 1000lux e (b) no escuro - 4° Processamento e (c) sob 1000lux e (d) no escuro - 5° Processamento.	117
FIGURA 4.18 Variação do índice de TBA a 532nm do requeijão cremoso estocado (a) sob 1000lux e (b) no escuro - 4° Processamento e (c) sob 1000lux e (d) no escuro - 5° Processamento.....	124
FIGURA 4.19 Perda de odor característico do requeijão cremoso estocados (a) sob 1000lux e (b) no escuro - 4° Processamento e (c) sob 1000lux e (d) no escuro - 5° Processamento.	127
FIGURA 4.20 Perda de sabor característico do requeijão estocados (a) sob 1000lux e (b) no escuro - 4° Processamento e (c) sob 1000lux e (d) no escuro - 5° Processamento.	128
FIGURA 4.21 Desenvolvimento de sabor de ranço no requeijão cremoso estocados (a) sob 1000lux e (b) no escuro - 4° Processamento e (c) sob 1000lux e (d) no escuro - 5° Processamento.....	129
FIGURA 4.22 Perda da qualidade global no requeijão cremoso estocados (a) sob 1000lux e (b) no escuro - 4° Processamento e (c) sob 1000lux e (d) no escuro - 5° Processamento.	130

LISTA DE ABREVIações

Aa	Atividade de água
Abs.	Absorbância
A L.	Ácido láctico
Al	Folha de alumínio
ANOVA	Análise de variância
B. Coex	Bisnaga coextrudada
B.PE	Bisnaga de polietileno
CNPT	Condições normais de pressão e temperatura
CO ₂	Gás carbônico
CV	Coeficiente de variação
EVOH	Copolímero de etileno e álcool vinílico
EST	Extrato seco total
GES	Gordura no extrato seco
HCl	Ácido clorídrico
H ₂	Gás hidrogênio
H ₂ S	Gás sulfídrico
IV	Infra vermelho
NaCl	Cloreto de sódio
N ₂	Gás nitrogênio
NMP	Número mais provável
O ₂	Gás oxigênio
O ₂ ⁻	Radical superóxido
¹ O ₂	Oxigênio singlete
³ O ₂	Oxigênio triplete
OPA	Poliamida orientada
PA	Poliamida (<i>nylon</i>)
PE	Polietileno
PEAD	Polietileno de alta densidade
PEBD	Polietileno de baixa densidade
PEBDL	Polietileno de baixa densidade linear
PET	Politereftalato de etileno
PIQ	Padrão de identidade e qualidade
PP	Polipropileno
PS	Poliestireno
PVDC	Copolímero de cloreto de vinila e cloreto de vinilideno
PVC	Policloreto de vinila
TBA	Ácido tiobarbiturico
TPO ₂	Taxa de permeabilidade ao oxigênio
TPVA	Taxa de permeabilidade ao vapor d'água
TECNOLAT	Centro de Pesquisa & Desenvolvimento de Laticínios
UFC	Unidades formadoras de colônias
UR	Umidade relativa
UV	Ultra violeta
VAf	Copo de vidro com tampa metálica de fácil abertura
VS	Copo de vidro termosselado

RESUMO

Requeijão cremoso é um produto genuinamente brasileiro, sendo classificado como um tipo de queijo processado obtido pelo cozimento de uma massa de queijo fresco adicionada de sais fundentes, água e creme de leite. Atualmente esse produto é acondicionado principalmente em copos de vidro com sistema de fechamento metálico de fácil abertura, ficando durante sua comercialização, exposto a luz em gôndolas sob refrigeração.

Pelo fato de não serem encontrados dados em literatura sobre os principais fatores que interferem em sua vida útil, a introdução de novas alternativas para este segmento acaba sendo limitada.

Assim, o objetivo desse trabalho foi estudar o efeito da disponibilidade de oxigênio e da incidência de luz sobre a estabilidade do requeijão cremoso através da análise comparativa da sua estabilidade quando acondicionado em diferentes tipos de embalagem, na ausência e presença de luz, determinando os efeitos das características de barreira ao oxigênio, à umidade e à luz da embalagem e da quantidade de oxigênio disponível no espaço-livre nas características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais do produto, ao longo da estocagem refrigerada.

O produto foi produzido na planta piloto do TECNOLAT/ITAL a partir de uma massa obtida por acidificação direta de leite aquecido a 80°C. O produto foi acondicionado em cinco diferentes tipos de embalagens (copo de vidro com tampa metálica abre-fácil, copo de vidro termosselado, pote plástico de polipropileno termosselado, bisnagas plásticas coextrudadas e de polietileno).

De maneira geral, não foram observadas alterações microbiológicas no requeijão cremoso acondicionado nos cinco tipos de embalagens indicando condições adequadas de processo e fechamento das embalagens em estudo.

Também não se observaram alterações físico-químicas do produto, pois as variações observadas encontravam-se dentro dos padrões normais para requeijão cremoso. Quanto ao índice de proteólise, este indicou estabilidade do sistema protéico do produto em todas as embalagens até 150 dias de estocagem e até 180 dias no copo de vidro com tampa metálica abre fácil. Os resultados de TBA, quando indicavam diferenças entre as amostras provenientes das diferentes embalagens expostas ou não à luz, a

oxidação do produto era muito acentuada e o mesmo já havia sido rejeitado na análise sensorial.

Em ausência de luz, a disponibilidade de oxigênio, seja presente no espaço-livre, seja por permeação pela embalagem, não afeta a perda de qualidade do requeijão cremoso para períodos de estocagem de até 150 dias a 10°C e 180 dias a 4°C. Também verificou-se que em ausência de luz, o efeito das temperaturas de estocagem estudadas, 10°C e 4°C foi pouco significativo.

Entretanto, a perda de qualidade de requeijão cremoso é significativamente maior se a estocagem do produto acondicionado nas embalagens for sob exposição à luz, quando observou-se alteração na fase lipídica levando à alteração sensorial do produto com rejeição e definição de final de vida útil.

Sob exposição à luz, o efeito de uma alta taxa de transmissão ao oxigênio foi observado, uma vez que a estabilidade do produto foi menor quando acondicionado na bisnaga PE em comparação com a obtida na estrutura da bisnaga Coex. Também verificou-se que o volume de oxigênio disponível afeta a estabilidade do produto de forma que, a partir de uma determinada concentração de oxigênio, seja por volume de gases no espaço-livre, ou seja por permeação, as reações de fotoxidação são muito aceleradas, uma vez que não foi observada diferença significativa no produto do vidro selado (VS), no pote de polipropileno (pote PP) e na bisnaga Coex (EVOH como camada barreira ao oxigênio). E, sob exposição à luz, em condições de menor volume de oxigênio disponível no espaço-livre da embalagem, a redução da pressão parcial de oxigênio no espaço-livre permite um período de vida útil maior para o produto, porque menor é a disponibilidade de oxigênio no produto para ser consumido nas reações fotoxidativas (situação do VAF).

Entre as embalagens estudadas, o vidro com sistema de fechamento por vácuo (VAF) foi o que preservou por mais tempo a qualidade inicial do produto, uma vez que apresenta a situação de mínima disponibilidade de oxigênio. Recomenda-se que caso se opte pela utilização de embalagens plásticas, que seja dada preferência para as com pigmentação do material, que garanta proteção contra a incidência de luz, aumentando assim a estabilidade do produto.

Palavras-chave: Embalagem. Queijo processado - "Requeijão cremoso". Efeito da luz. Reações de oxidação. Vida útil.

ABSTRACT

Requeijão cremoso, a genuine Brazilian dairy product, is classified as a smooth textured processed cheese obtained by cooking a blend of fresh cheese curd, emulsifying salts, water and cream. Currently, the product is typically marketed in glass packages sealed off with a metallic easy-open closure system and which remain exposed to light in refrigerated display cabinets for varying periods of time during commercialization.

Since no data are available from literature relative to the major factors affecting the shelf-life properties of this product, the introduction of innovative packaging alternatives remains limited.

The objective of this study was to investigate the effect of oxygen availability and exposure to light on the stability of *requeijão cremoso*. For that purpose, a comparative analysis was conducted to evaluate the stability of *requeijão cremoso* in different packages, stored both in the presence and absence of light, by determining the effects of the oxygen, moisture and light barrier properties of the packages and the amount of oxygen in the headspace on the microbiological, physical-chemical and sensory characteristics of the product during refrigerated storage.

The product was produced at the TECNOLAT/ITAL pilot plant from fresh cheese curd obtained by direct acidification of heated milk at 80°C. The product was hot-filled into five different types of package: (1) EOG: glass container in the shape of a regular household glass sealed with an easy-open tinplate cap; (2) SG: heat-sealed glass container; (3) PP cup: heat-sealed plastic polypropylene cup; (4) Coex T.: coextruded plastic squeeze tube, and (5) PE T.: polyethylene squeeze tube.

In general, no significant microbiological changes were observed in any of the *requeijão* samples contained in the five package types tested, thereby indicating adequate processing and sealing conditions.

In addition, no significant changes in the physical-chemical properties were found and all variations observed fell well within the limits of any applicable quality standard for *requeijão cremoso*. The proteolysis index indicated stability of the protein system for all the packages for up to 150 days storage and up to 180 days for the product contained in the glass cup sealed with the easy-open metal cap. By the time TBA results indicated differences between the samples collected from the different packages either exposed to

light or stored in darkness, the product had already undergone excessive oxidation and been rejected by sensory analysis at an earlier stage of storage.

When stored in the absence of light, the oxygen available of either contained in the headspace or introduced into the packages by permeation through the packaging material does not affect the loss of overall quality of *requeijão cremoso* during storage periods of up to 150 days at 10°C and 180 days at 4°C. It was also found that, in the absence of light, the influence of the storage temperatures studied (10°C and 4°C) was of little significance.

On the other hand, quality loss of *requeijão cremoso* was significantly greater for the products stored exposed to light. The cheese samples contained in the different packages exposed to light exhibited changes in the lipid phase affecting the sensory properties of the product which caused its rejection and consequently shortened its shelf-life.

When exposed to light, the effect of a high oxygen transmission rate was observed since the product contained in the PE T. was found to be less stable than the product in the Coex T.. It was also found that the volume of oxygen available – either contained as part of the total gas volume in the headspace or introduced into the packages by permeation – affects the stability of the product in that, from a given concentration on, the oxygen significantly accelerates the rate of photo-oxidation reactions, as evidenced by the fact that no significant difference was observed between the *requeijão* contained in the sealed glass container (SG), the polypropylene plastic cup (PP cup) and the Coex T. (EVOH as oxygen barrier layer). In addition, the packages with smaller volumes of oxygen available in the headspace, such as is the case of the EOG package, enhance the shelf-life of the product due to the lower partial oxygen pressure in the headspace which reduces the amounts of oxygen available for consumption by photo-oxidation reactions.

Among the packages studied, the vacuum-sealed glass container (EOG) was found to be the package that preserved the initial product for the longest period of time, mainly as a result of the presence of minimum quantities of oxygen within the package. In case plastic packages are preferred, the recommendation is for containers made of pigmented plastic materials which ensure protection against the incidence of light, thereby enhancing product stability and shelf-life.

Keywords: Packaging. Processed cheese - *Requeijão cremoso*. Effect of light. Oxidative reactions. Shelf-life

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A qualidade de queijos está relacionada a diversos fatores, especialmente a qualidade microbiológica do leite e de outras matérias-primas e as condições tecnológicas e higiênico-sanitárias de fabricação. A vida útil deste tipo de produto, é limitada por reações químicas, bioquímicas e microbiológicas que levam a sua rejeição. Estas reações, por sua vez, podem ter sua cinética retardada pela manutenção do produto sob temperatura refrigerada e pelo emprego de um sistema de embalagem adequado.

Queijo processado ou fundido é um produto obtido da mistura de queijo, água e sais fundentes, que passa por um tratamento térmico, sendo normalmente acondicionado ainda quente na embalagem. No Brasil, um queijo fundido típico é o requeijão cremoso, produzido por fusão de uma massa coalhada, dessorada e lavada, obtida por coagulação ácida e/ou enzimática do leite com adição de creme de leite e/ou manteiga e/ou gordura anidra de leite e/ou *butteroil*.

Vários sistemas de embalagem são utilizados para o acondicionamento de requeijão cremoso no mercado nacional e de queijos fundidos no mercado internacional, porém outros tipos de embalagem têm grande potencial de utilização para esses produtos, mas ainda têm aplicação restrita.

A implementação de embalagens alternativas para requeijão cremoso ainda é limitada, pois não há estudos específicos sobre a estabilidade do requeijão cremoso ao longo da estocagem e quais os principais fatores que interferem em sua vida útil, seja em função da embalagem, das condições de estocagem especialmente em relação à temperatura e à incidência de luz.

Assim, o objetivo desse trabalho foi estudar o efeito da disponibilidade de oxigênio e da incidência de luz sobre a estabilidade do requeijão cremoso através da análise comparativa da sua estabilidade quando acondicionado em diferentes tipos de embalagem, na ausência e presença de luz, determinando os efeitos das características de barreira ao oxigênio, à umidade e à luz da embalagem e da quantidade de oxigênio disponível no espaço-livre nas características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais do produto, ao longo da estocagem refrigerada.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fabricação de queijos processados /requeijão cremoso

2.1.1 Fabricação de queijo processado em geral

Queijos processados pasteurizados são produzidos pelo fracionamento, fusão e emulsificação de uma mistura de um ou mais queijos, adição de ingredientes opcionais e, usualmente, sais emulsificantes, por meio de aquecimento, com constante agitação, até que seja obtida uma massa fundida, homogênea e lisa (FOX et al., 2000b).

O processo de fabricação de queijos processados engloba basicamente as seguintes etapas (FOX et al., 2000b):

- Formulação da mistura, que envolve a seleção do tipo e a determinação da quantidade de queijo natural, sais emulsificantes, água e outros ingredientes, em função do tipo de queijo processado a ser fabricado;
- Fracionamento do queijo e mistura com os outros ingredientes;
- Tratamento térmico da mistura com aplicação direta ou indireta de vapor e constante agitação. O uso de vácuo durante o cozimento é opcional e pode ser utilizado para regular o conteúdo de umidade, quando é feita a injeção direta de vapor na massa e também para remoção de ar da massa. Em processamento por batelada, a combinação de tempo e temperatura varia (70-95°C por 4-15min) dependendo da formulação, do nível de agitação e das características desejadas para o produto final em termos de textura, consistência e vida útil. No processo contínuo, a mistura é aquecida a 80-90°C em um misturador a vácuo e deste é bombeada para uma bateria de trocadores de calor tubulares onde é aquecida a 130-145°C por poucos segundos, sendo, na seqüência, rapidamente resfriada à 90°C. O produto é então bombeado para um tanque pulmão que alimenta o equipamento de acondicionamento do produto nas embalagens, sendo posteriormente resfriado.

Existe uma grande variedade de queijos processados, dada a diversificação possível em tipo de processo de fabricação e em composição, dependendo, por exemplo, do tipo e do grau de maturação dos queijos utilizados e de outros ingredientes adicionados como produtos lácteos (leite e soro de leite em pó, creme, leite ultrafiltrado, etc), estabilizantes (sais emulsificantes, hidrocoloides, emulsificantes orgânicos), agentes acidificantes, aromatizantes, pigmentos, conservantes, condimentos, etc. (FOX et al., 2000b).

A adição de sais emulsificantes (em torno de 10 a 30g/kg) durante o processamento promove a emulsificação da gordura e a rehidratação da proteína, além de contribuir para a formação de um produto homogêneo, liso e estável. Durante o aquecimento e agitação, o sal emulsificante promove uma série de mudanças físico-químicas na mistura, que inclui o seqüestro do cálcio da matriz protéica (troca com o sódio do sal emulsificante), ajuste e estabilização do pH, hidratação e dispersão da paracaseína, emulsificação da gordura e formação da estrutura do queijo (FOX et al., 2000b).

Outra propriedade dos sais emulsificantes é o efeito bacteriostático, função esta importante nos queijos processados onde se utilizam temperaturas de 70 a 95°C e que podem conter esporos viáveis, especialmente de *Clostridium*. Tais esporos são provenientes das matérias primas e, caso germinem durante a estocagem, podem causar estufamento das embalagens, putrefação de proteínas e desenvolvimento de sabor / odor estranho (FOX et al., 2000b).

Por outro lado, segundo FOX et al. (2000b), dependendo do tipo de sal emulsificante utilizado, pode ocorrer o desenvolvimento de *off-flavours* como amargor e gosto de sabão.

2.1.2 Fabricação de requeijão cremoso

Segundo a classificação genérica de queijos, o requeijão cremoso pertence ao grupo de queijos denominados processados pasteurizados e é o produto que melhor representa essa classe no Brasil (OLIVEIRA, 1986).

O requeijão é um queijo tipicamente brasileiro, originário de fabricação caseira, como uma forma de aproveitamento do leite coagulado devido à ação da microbiota láctica natural do leite. Industrialmente, é fabricado a partir de leite desnatado cru ou pasteurizado, com ou sem adição de culturas lácticas, sendo a utilização do leite desnatado uma prática proveniente da época em que a manteiga era o derivado mais valorizado do leite. Assim sendo, pequenas fábricas semi-artesanais que dispunham de uma desnatadeira separavam o creme e o leite desnatado resultante era deixado coagular espontaneamente para obter a massa que era então transformada em requeijão (MUNCK; CAMPOS, 1984; OLIVEIRA, 1986).

De acordo com o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Requeijão ou Requesón (Portaria 359; 04/09/1997), *Requeijão cremoso* é definido como

produto obtido por fusão de uma massa coalhada, dessorada e lavada, obtida por coagulação ácida e/ou enzimática do leite com adição de creme de leite e/ou manteiga e/ou gordura anidra de leite ou butteroil. Deve conter no mínimo 55,0% de matéria gorda no extrato seco e 65% de umidade no máximo (BRASIL, 1998). Ainda segundo esta Portaria, o requeijão deve apresentar algumas características sensoriais essenciais, como: consistência untável ou fatiável; textura cremosa, fina, lisa ou compacta; cor característica, odor característico; sabor a creme, levemente ácido e opcionalmente salgado.

Porém, com o nome de requeijão, existem no mercado queijos com diferentes teores de umidade e, conseqüentemente, com variações na consistência, havendo desde produtos de elevada cremosidade, com propriedade de espalhabilidade como o requeijão cremoso, até produtos bastante firmes e até mesmo fatiáveis como o requeijão do norte. O mesmo acontece com relação ao teor de gordura, com elevada variação, podendo chegar quase a um creme fermentado, até requeijões praticamente sem gordura. Não existe, portanto, um padrão típico para os produtos comercializados no Brasil com a denominação de requeijão (OLIVEIRA, 1986; CAVALCANTE, 1991).

O requeijão cremoso é consumido normalmente logo após a fabricação e deve apresentar sabor ligeiramente ácido, agradável ao paladar, aroma característico de produto fermentado por microrganismos lácticos e massa homogênea, com uma cremosidade ou untuosidade típica. Um requeijão mais consistente, a exemplo do requeijão do norte, pode fugir ligeiramente desta última característica, apresentando-se como uma massa mais desidratada, lembrando de certa forma as características de um queijo de massa filada recém-fabricado (OLIVEIRA, 1986).

No Brasil, para produção de massa destinada à fabricação de requeijão cremoso a indústria tem utilizado principalmente três processos de coagulação do leite: o tradicional, onde a acidificação é feita por meio de fermentos lácticos; a acidificação direta (com ácido láctico ou ácido acético) do leite aquecido e a coagulação enzimática (REQUEIJÃO..., 1999; FERNANDES; MARTINS, 1980; FERNANDES, 1981a, 1981b, 1981c).

Uma outra alternativa tecnológica importante para o requeijão cremoso consiste na fabricação de produtos com teor de gordura reduzido (9 a 12%) e umidade em torno de 70%, denominado requeijão cremoso *light* para os quais existe uma legislação específica (VAN DENDER, 2000b). A partir de 2002, um produto denominado “especialidade láctea

com requeijão cremoso” passou a ser produzido no Brasil visando uma redução de custo do produto, devido ao menor custo dos ingredientes utilizados.

Deve-se enfatizar que, queijo processado com maior vida útil e características sensoriais adequadas, só pode ser obtido a partir de matéria-prima de boa qualidade. Sendo assim, os fabricantes de produtos reconhecidos por sua qualidade, além de controlarem o teor de gordura e de extrato seco da matéria-prima, também examinam suas condições de higiene e a qualidade bacteriológica, principalmente no que se refere à presença de microrganismos esporulados anaeróbicos. Além disso, os controles de laboratório são indispensáveis não somente durante a produção, mas também no produto final, visando garantir a qualidade constante do queijo processado. Finalmente, são fundamentais os cuidados quanto aos aspectos de higiene e sanificação dos equipamentos, tanques, tubulações, bombas, filtros, etc., uma vez que os resíduos de produto são de difícil remoção e podem se tornar focos de contaminação, difíceis de serem eliminados (REQUEIJÃO..., 1999; BERGER et al., 1997a, 1997b; VAN DENDER, 1997; VAN DENDER, 2000b).

Apesar da crescente importância do requeijão cremoso no mercado brasileiro, as informações sobre o produto na literatura nacional ainda são restritas. Trabalhos pioneiros foram desenvolvidos por FERNANDES e MARTINS (1980), buscando otimizar os parâmetros do processamento de requeijão cremoso a partir de massa obtida por acidificação direta a quente do leite de búfala e de vaca. FERNANDES et al. (1985a, 1985b) estudaram formulações de sais emulsificantes para a elaboração de requeijão cremoso e de outros queijos fundidos.

Outros estudos foram realizados por NEVES e DUCRUET (1988) a respeito do emprego da ultrafiltração/diafiltração como uma forma de obtenção da massa para fabricação de requeijão cremoso. CAVALCANTE (1991) procurou desenvolver e padronizar formulações para o processamento de requeijão tradicional. Outros trabalhos que merecem destaque são os de CONDACK (1993) sobre a utilização de concentrado protéico de soro na fabricação de requeijão cremoso e de RAPACCI (1997) que realizou um estudo comparativo das características físicas, químicas, reológicas e sensoriais de requeijão cremoso obtido por fermentação láctica e por acidificação direta a quente do leite. Além destes, um estudo buscando definir as características físico-químicas e reológicas do requeijão cremoso fabricado a partir de retentado obtido por ultrafiltração de

leite pré-acidificado adicionado de concentrado protéico de soro foi realizado por GIGANTE (1998).

Ressalta-se que nos trabalhos mencionados o enfoque sempre foi o processo de fabricação do produto e a avaliação das características do produto recém-produzido. A única exceção é o estudo desenvolvido por SILVA (2003) onde além da avaliação de tecnologias para produção de requeijão cremoso tradicional e “light” também foi realizado um acompanhamento das características físico-químicas do produto por 60 dias de estocagem em embalagem de vidro, na ausência de luz a 4°C.

2.2 Estabilidade de queijos processados

A estabilidade de queijos processados depende das características dos ingredientes utilizados na formulação (qualidade microbiológica, tipo de sal fundente, uso ou não de conservantes, etc.), tipo de processamento e condições de estocagem. Além disso, devem ser acondicionados em embalagens com fechamento hermético para evitar a sua recontaminação (BERGER et al., 1997a, 1997b).

Outro requisito de proteção exigido das embalagens para esta categoria de produto é evitar a sua desidratação. A desidratação causa perda de umidade, em especial no produto localizado na superfície da embalagem, levando a alterações na textura característica, perda de peso e a um comprometimento da aparência. De maneira geral, a desidratação é evitada com um fechamento hermético da embalagem (BERGER et al., 1997a), além de ser necessário que a embalagem apresente certa barreira ao vapor d'água (PASCUET, 1994; SCHÄR; BOSSET, 2002).

A perda de umidade de queijos processados foi observada em dois trabalhos da literatura internacional. GOYAL e BABU (1991) observaram decréscimo no teor de umidade em queijo processado a partir de Cheddar maturado por 6 meses e acondicionado em copos de poliestireno e em bisnagas de PEBD, ao longo de 30 dias de estocagem a 30°C/60%UR e 90 dias a 7-8°C/80%UR, mais significativa na maior temperatura de condicionamento. EL-SHIBINY et al. (1996) também observaram decréscimo na umidade em queijo processado acondicionado a vácuo, quando acondicionado em laminados compostos de PA/PE e PET/PE, durante 3 meses de estocagem a 25-30°C.

Como os queijos processados são acondicionados a quente, a embalagem deve se manter estável, sem deformação, em temperaturas da ordem de 80-90°C. O enchimento a quente visa aproveitar a fluidez do produto, eliminar/reduzir alguma contaminação microbiológica que porventura esteja na superfície da embalagem e, também, reduzir o oxigênio do espaço-livre de embalagens rígidas ou facilitar a aderência do queijo à superfície de embalagens flexíveis, diminuindo assim a possibilidade de desenvolvimento de microrganismos aeróbicos na superfície desses queijos. Além disso, se a embalagem for rígida, deve apresentar resistência ao colapso que ocorre devido ao vácuo formado pelo resfriamento do produto.

A absorção de odores estranhos do ambiente de estocagem pelo produto também deve ser evitada controlando-se a proximidade do mesmo a produtos com alto teor de voláteis durante a estocagem e comercialização ou utilizando-se materiais de embalagem que sejam barreira a vapores orgânicos.

A embalagem também deve ser fabricada com materiais aprovados para contato com alimentos, atendendo requisitos de composição e limites de migração global ou específica, de forma a garantir a segurança alimentar do material de embalagem (BRASIL, 1999).

Entretanto, é conhecido que também podem ocorrer alterações em queijos processados relacionadas com o tipo de embalagem utilizada, que são induzidas pela luz e pelo oxigênio (SCHÄR; BOSSET, 2002). Segundo KRISTENSEN e SKIBSTED (1999), o efeito mais importante da luz é sobre as reações de oxidação de lipídios.

A oxidação de lipídios está associada à reação do oxigênio com lipídios insaturados por meio de dois mecanismos diferentes (NAWAR, 1996):

Auto-oxidação – mecanismo autocatalítico de radicais livres em cadeia, principalmente entre os ácidos graxos insaturados dos acilgliceróis com o oxigênio atmosférico (oxigênio triplete). Desta reação resultam aldeídos, cetonas, álcoois, hidrocarbonetos, etc. responsáveis pelo desenvolvimento de sabor e odor de ranço no produto. A auto-oxidação pode ocorrer na ausência de luz, embora esta seja um dos possíveis catalisadores da reação. A reação se dá em três etapas que se distinguem pelos produtos formados e pelas alterações sensoriais que estes causam no alimento em cada fase. Na primeira etapa, a fase de indução ou iniciação, não há consumo de

oxigênio e não há alteração sensorial do produto, mas são formados nesta fase os primeiros radicais livres a partir do ácido graxo insaturado na presença de calisadores como luz, calor e metais; na segunda etapa, de propagação, inicia-se a rápida alteração sensorial do produto, ocorre alto consumo de oxigênio e formação de peróxidos; e, finalmente, na última etapa, denominada de terminação, o produto já se encontra sensorialmente muito alterado, devido às interações entre os radicais livres, levando à formação de compostos estáveis, não radicais, mas voláteis e responsáveis pela rancidez. Nesta última etapa não há mais consumo de oxigênio.

Fotoxidação – mecanismo alternativo que ocorre pela exposição de alimentos à luz que apresentam fotosensibilizadores, como a riboflavina em produtos lácteos. Este mecanismo difere da reação de auto-oxidação por não apresentar período de indução, ou seja, não ocorre a formação de radicais livres, uma vez que o ácido graxo reage diretamente com o oxigênio singlete (formado a partir do oxigênio triplete por meio de reações fotoquímicas) formando o peróxido (etapa de propagação da reação). Quando ocorre o mecanismo de fotoxidação, a oxidação do produto é muito rápida.

Assim, como queijos em geral são preferencialmente comercializados em embalagens transparentes e são expostos à luz durante o processamento, embalagem, distribuição e comercialização, a avaliação de alterações que podem ocorrer nesta categoria de produto devido a reações fotoxidativas, tem sido alvo de recentes pesquisas, descritas a seguir.

2.3 Efeito da exposição à luz na estabilidade de produtos lácteos

2.3.1 Reações químicas induzidas pela luz

A sensibilidade de produtos lácteos quando expostos à luz depende principalmente da presença de oxigênio e de riboflavina (vitamina B₂), um fotossensibilizador capaz de absorver energia e causar reações de oxidação em cadeia, levando principalmente ao desenvolvimento de sabores/odores estranhos, à perda de nutrientes como vitaminas e aminoácidos e à descoloração de pigmentos (BOSSET et al., 1995; BORLE et al., 2001; BRADLEY; MIN, 1992; MORTENSEN et al., 2002c; SKIBSTED, 2000).

Agindo como fotossensibilizador, a riboflavina transfere a energia absorvida da luz para outras moléculas, como o oxigênio dissolvido no produto que, ao receber essa energia, passa de seu estado natural na atmosfera – oxigênio triplete (³O₂) – para a forma

excitada e quimicamente muito reativa – oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$). Embora a maioria das frações de lipídios, proteínas e açúcares dos alimentos não absorvam diretamente a luz na região do visível, estes compostos são sensíveis ao oxigênio em sua forma excitada.

Por outro lado, a riboflavina também pode se reduzir devido à oxidação de um substrato - S (carboidrato ou aminoácido) - susceptível à oxidação por esse fotossensibilizador, independentemente da presença de oxigênio, e pode reagir com o $^3\text{O}_2$ para formar um radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), conforme ilustrado esquematicamente na Figura 2.1.

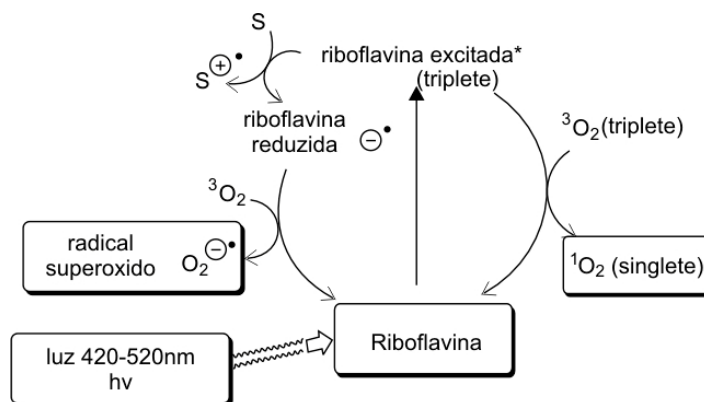


FIGURA 2.1 Reações fotoquímicas e de troca de energia na presença de riboflavina (BORLE et al., 2001).

As principais alterações decorrentes da ação da luz em produtos lácteos são a perda do sabor e odor característicos e o desenvolvimento de sabor e odor estranhos pela formação de dois produtos distintos.

Um tipo de sabor estranho induzido pela luz é causado pela oxidação de lipídios insaturados do produto, devido à ação do oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), formando hidroperóxidos, que são produtos instáveis e dão origem a compostos voláteis, como aldeídos, cetonas e ácidos graxos de cadeia curta, responsáveis pelo sabor e odor de ranço. Este sabor pode ser caracterizado ainda como “sabor metálico ou de cartão” (SKIBSTED, 2000).

Outro sabor estranho que se desenvolve deve-se à ação do oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) sobre os resíduos de metionina de proteínas do soro, produzindo metional e dimetildissulfeto. Este sabor estranho é conhecido como *sunlight flavour*, uma vez que foi primeiramente caracterizado nos leites acondicionados em embalagens transparentes que eram deixados nas portas das

residências e expostos ao sol. Este sabor também é conhecido como *activated flavour*, porque também é observado quando a vitamina D é ativada por irradiação UV ou como *burnt feather*, devido à formação de sabor estranho relacionado com aminoácidos contendo enxofre (característicos de penas) (SKIBSTED, 2000).

A perda de vitaminas também é uma alteração importante em produtos lácteos, pois como são nutrientes essenciais, sua degradação por reações de fotodegradação leva à redução do valor nutricional dos alimentos. A Vitamina A e seus precursores, os carotenóides, também são sensíveis à luz e podem se isomerizar ou fotooxidar devido à presença de riboflavina, formando alguns produtos como a β -ionona, que pode levar ao desenvolvimento de sabor e odor estranhos mesmo quando presente em pequena quantidade, devido ao seu baixo *threshold* (quantidade mínima detectada sensorialmente). A Vitamina D, que pode ser ativada em leite pela luz UV, é oxidada por oxigênio singlete. A quantidade de outras vitaminas importantes, como a vitamina E e a vitamina C, também decresce devido à ação dessas vitaminas como quelantes de oxigênio singlete (antioxidantes) (SKIBSTED, 2000).

Outra alteração importante em queijos é de cor, importante requisito de aparência para tais produtos. Com relação a esse assunto, tem sido observada perda de cor na superfície de queijos com o corante anato devido à ação da luz, ao passo que o β -caroteno tem se mostrado mais foto-estável que o anato, quando utilizado para ajustar a cor em queijo Cheddar (SKIBSTED, 2000).

Além disso, podem ocorrer outras alterações induzidas pela luz como a oxidação de colesterol na superfície de produtos como a manteiga (principal componente da gordura desse produto) e em queijos processados, uma vez que alguns óxidos de colesterol são considerados tóxicos e podem se acumular nesses produtos (KRISTENSEN et al., 2001; SKIBSTED, 2000).

2.3.2 Parâmetros que afetam a fotossensibilidade

a) Fatores intrínsecos

Fatores intrínsecos de cada produto de laticínio interferem em sua fotossensibilidade. Esses fatores estão relacionados com a composição e com o processo

de fabricação do produto e, muitas vezes, são difíceis de serem alterados sem causar modificações no tipo de produto.

Dentre os fatores intrínsecos incluem-se a composição do produto (concentração de antioxidantes como vitamina C, E, A e precursores; oxidantes como vitamina B₂ e metais pesados; quantidade e tipo de gordura, principalmente se o produto tiver maior quantidade de ácidos graxos insaturados livres); o pH; o potencial de óxido-redução (quanto maior, menos sensível à luz); a conversão de O₂ para CO₂ no produto (devido ao desenvolvimento de bactérias lácticas, por exemplo); o espectro de reflexão, transmissão e absorção da luz pelo produto; a estrutura do produto (quanto mais compacto, menor é a penetração da luz); a forma de apresentação (por exemplo, queijo ralado ou fatiado tem maior área de exposição do produto), entre outros (BOSSET et al., 1995; BORLE et al., 2001; MORTENSEN et al., 2002b).

O tipo de tratamento a que o produto é submetido, como homogeneização e pasteurização, também interfere na sua susceptibilidade à oxidação. Estudou-se a influência de alguns parâmetros de processo para leite fluido, por exemplo, observando-se que quanto maior a temperatura, maior a liberação de grupos sulfidril que agem como antioxidantes no produto (BORLE et al., 2001). Para queijos, no entanto, a influência de parâmetros de processo não são conhecidos (MORTENSEN et al., 2002b).

Vale ressaltar que, embora seja apontado em literatura que o conteúdo de riboflavina (fotosensibilizador) em queijos é pequeno, por ser esta uma vitamina hidrossolúvel que pode ser eliminada na etapa de dessoragem da massa (BOSSET et al., 1995), os níveis apresentados por FOX e McSWEENEY (1998) no leite, cerca de 0,17mg/100g são da mesma ordem de grandeza do observado em queijos em geral (cerca de 0,30-0,50mg/100g) e também levantado por MORTENSEN et al. (2004).

Os teores de riboflavina também descritos por FOX e McSWEENEY (1998) para queijos processados (0,28mg/100g) são da mesma ordem de grandeza dos observados em requeijões cremosos obtidos a partir de massa por acidificação direta a quente fabricado na planta do Tecnolat / ITAL, no qual testes preliminares indicaram variações entre 0,17 e 0,28mg/100g. Estes teores também concordam com aqueles obtidos por KRISTENSEN et al. (2001) uma vez que em seus experimentos com queijo processado, o teor inicial de riboflavina era de 0,2mg/100g.

Assim, os níveis de riboflavina em queijos, inclusive em queijos processados, encontram-se em torno de 2 a 3ppm o que, segundo BORLE et al. (2001) já é suficiente para a produção contínua da forma mais reativa de oxigênio – o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e de radicais livres como o $\text{O}_2^\bullet$, que então se difundem no meio e reagem com componentes presentes no alimento, causando as alterações discutidas anteriormente.

O fato de que estudos na área deveriam ser realizados para cada tipo de produto ficou evidenciado já na década de 60 pelos resultados obtidos por KRISTOFFERSEN et al. (1964) em um estudo pioneiro sobre queijos Cheddar e Suiço em pedaços e Cheddar processado fatiado. Os autores avaliaram queijos com diferentes tempos de produção e obtidos de diversos fabricantes, estocados sob diferentes tipos de fonte de luz e acondicionados em embalagens plásticas flexíveis com e sem aditivos barreira à luz, utilizando diferentes composições de gases no espaço-livre de embalagens de PE e antioxidantes aplicados na superfície do produto, etc. Deste estudo foram apresentados apenas os resultados das avaliações sensoriais e na forma de médias obtidas em tratamentos diferentes, justificando que as mudanças observadas não estavam relacionadas com o tipo de embalagem ou fonte de luz empregada. Segundo os autores, os experimentos indicaram que a exposição à luz leva ao desenvolvimento de um sabor/odor oxidado, e que a perda de qualidade sensorial depende do tipo de queijo e de suas características individuais. Por exemplo, verificou-se no estudo maior estabilidade sensorial do queijo Cheddar processado fatiado em relação ao queijo Cheddar originalmente usado na obtenção do queijo processado, principalmente quando protegidos da luz.

b) Embalagem

A quantidade de oxigênio disponível também interfere na estabilidade de produtos de laticínios expostos à luz. O oxigênio pode estar dissolvido no produto ou vir a se dissolver, caso esteja presente no espaço-livre ou permeie pelo material de embalagem (BOSSET et al., 1995; BORLE et al., 2001; MORTENSEN et al., 2002b).

Assim, inicialmente, a quantidade de oxigênio dissolvido no produto depende da quantidade de oxigênio presente no produto devido ao tipo de processo empregado e do volume e teor de oxigênio do espaço-livre da embalagem, que é função do tipo de acondicionamento do produto (enchimento a quente ou a frio, levando ou não à formação de vácuo dentro da embalagem; acondicionamento com atmosfera modificada, etc.).

Quando sob vácuo, quanto menor for a pressão parcial de oxigênio no espaço-livre da embalagem, menor será a solubilização do oxigênio no produto, porque a concentração de oxigênio dissolvido no produto é diretamente proporcional à pressão parcial de oxigênio conforme descrito pela Lei de Henry (HERNANDEZ et al., 2000b):

$$C_{O_2} = S \cdot p_{O_2}$$

onde:

C_{O_2} = concentração de oxigênio dissolvido no produto;

S = coeficiente de solubilidade, que depende da composição do produto, temperatura, etc.

p_{O_2} = pressão parcial de oxigênio no espaço-livre da embalagem

Outro fator que pode interferir na qualidade do produto é a taxa de permeabilidade ao oxigênio da embalagem, que, dependendo do tipo de material, pode ser mais ou menos permeável ao oxigênio (BORLE et al., 2001; MORTENSEN et al., 2002b).

No caso de embalagens plásticas, a taxa de permeabilidade ao oxigênio depende do tipo de polímero e estrutura sendo que a utilização de resinas com características de barreira ao oxigênio a exemplo do EVOH, PVDC, PA, PET e/ou PVC levam a estruturas com menor permeabilidade ao oxigênio. A espessura do material barreira em embalagens flexíveis ou a distribuição de espessura no caso de embalagens rígidas influencia de forma que, quanto maior for a espessura, menor é a taxa de permeabilidade ao oxigênio. Além disso, o tipo de processo de fabricação do material / embalagem, também pode levar a uma redução na taxa de permeabilidade ao oxigênio, a exemplo da orientação do polímero, aumento da cristalinidade, etc. (HERNANDEZ et al., 2000a; JENKINS; HARRINGTON, 1991).

No caso de embalagens plásticas rígidas também pode ocorrer entrada de oxigênio pelo sistema de fechamento, ou seja, pode ocorrer permeação de oxigênio pelo material da tampa e/ou pelo selo de vedação (se existente) e/ou entrada de oxigênio em falhas no sistema de fechamento (GARCIA et al., 1989). No caso de embalagens de vidro, pelo fato deste material ser impermeável a gases e vapor d'água, toda a entrada de oxigênio, se houver, ocorre via o sistema de fechamento.

O tipo de material de embalagem também interfere na porcentagem e comprimento de onda de luz transmitida para o produto, a qual determina o nível de energia disponível para as reações fotooxidativas. Caso seja desejável transparência é possível a utilização

de embalagens plásticas transparentes com incorporação de aditivos absorvedores de luz UV como ocorre em embalagens PET (COLTRO et al., 2003) (Figura 2.2a) e em embalagens de PVC (AZEREDO, 2001) (Figura 2.2b), embora a luz na região visível (principalmente de 400 a 500nm) também possa catalisar reações em produtos lácteos (MORTENSON et al., 2004).

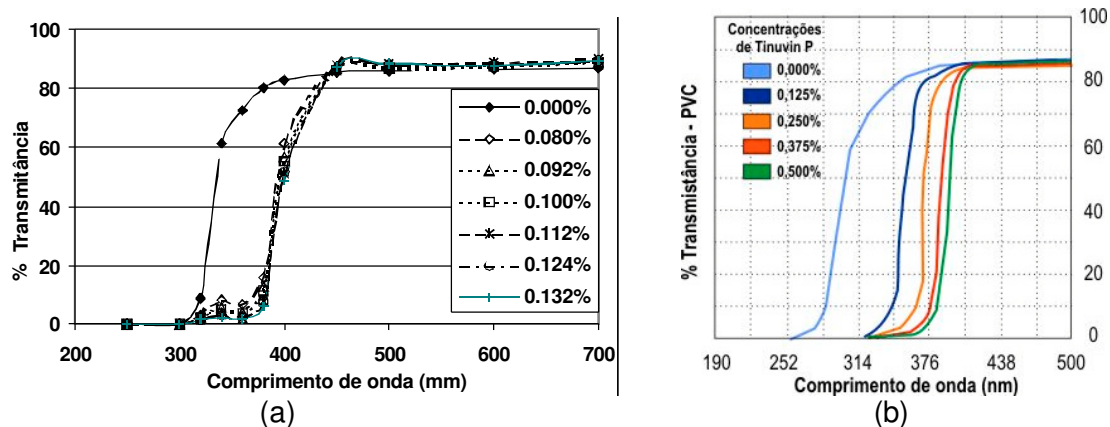


FIGURA 2.2 Espectros de transmissão de luz de (a) PET (COLTRO et al., 2003) e (b) PVC (AZEREDO, 2001), sem e com absorvedores de luz UV .

Outra alternativa é a utilização de pigmentação, preferencialmente de vermelho ou marrom (BOSSET et al., 1995), que são as cores que diminuem o espectro de transmissão na região do visível, sem perder totalmente a visibilidade do produto no interior da embalagem (Figura 2.3). De qualquer forma, a pigmentação do material de embalagem também precisa levar em consideração os requisitos de marketing de cada categoria de produto e a legislação vigente quanto ao controle de metais pesados em pigmentos e corantes (PASCUET, 1994; BRASIL, 1999). No Brasil é comum a utilização de embalagens flexíveis pigmentadas de laranja e vermelho para queijos tipo prato e gouda, por exemplo, mas o mesmo não é observado para outras categorias de queijos como mozzarella, queijos processados em geral, etc.

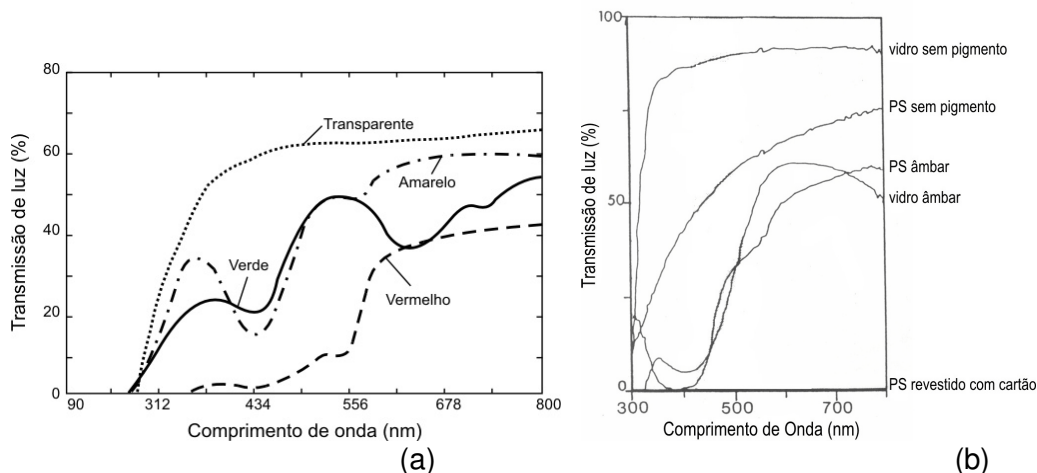


FIGURA 2.3 Espectros de transmissão de luz de (a) PVC – 0,45mm sem e com pigmentação (ESPINOZA-ATENCIA; FARIA, 1994) e (b) de embalagens de iogurte – PS e vidro com e sem pigmentação (BOSSET et al., 1995).

Além da cor do pigmento, quanto maior a espessura e o nível de pigmentação, menor é a transmissão de luz pelo material (GARCIA et al., 1989), podendo-se ter embalagens plásticas totalmente opacas. Barreira a luz também é obtida quando são utilizadas estruturas flexíveis contendo filme metalizado ou folha de alumínio, limitando a transmissão de luz para o produto (MORTENSEN et al., 2004) como ocorre em queijo parmesão ralado. Porém, esses materiais não permitem a visualização do produto (não são transparentes), o que pode torná-lo menos atrativo para o consumidor em alguns casos, ou ser aceito como padrão do mercado a exemplo da utilização de embalagens de poliestireno pigmentadas (vermelho e branco) de queijo tipo *petit suisse* e *cream cheese*.

Nesta linha, MORTENSEN et al. (2002a) avaliaram queijos Havarti fatiados (330g, 9 fatias), acondicionados com atmosfera modificada (25%CO₂/75%N₂), quanto a influência do efeito combinado do uso de embalagens flexíveis (OPA/PE e PET/PVDC/PE) com diferentes barreiras ao oxigênio (TPO₂ entre 5 e 63cm³/(m².dia) a 1atm, 23°C e 0%UR) e diferentes condições de barreira à luz (Figura 2.4) durante a estocagem sob 1300 lux, à 4-7°C por 20 dias. Avaliaram a cor instrumental e o odor da fatia da camada superior de queijo de cada embalagem, bem como a porcentagem de oxigênio e a formação de produtos de oxidação (1-pentanol, 1-hexanol, hexanal) no espaço-livre das embalagens. Quanto à porcentagem de oxigênio do espaço-livre, não foi observada diferença entre as embalagens fabricadas com os diferentes materiais. Os autores observaram um maior efeito sobre a degradação do produto causada pelas características de transmissão de luz dos materiais do que pelas suas taxas de permeabilidade ao oxigênio, uma vez que o produto foi melhor preservado na estrutura

pigmentada de preto, seguida da pigmentada de branco, e observaram pouca proteção do produto acondicionado nos materiais não pigmentados.

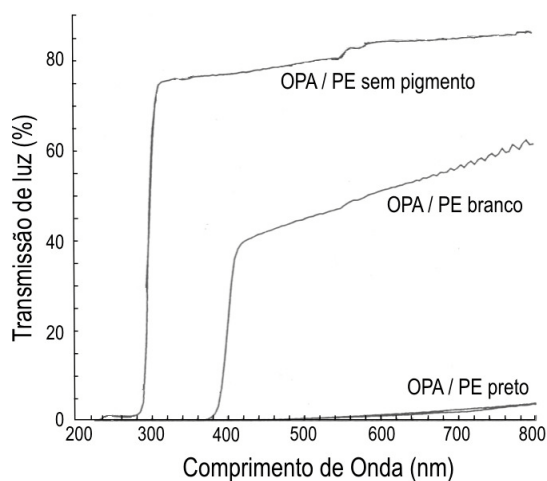


FIGURA 2.4 Espectros de transmissão de luz de uma embalagem flexível de estrutura OPA/PE sem e com pigmentação (MORTENSEN et al., 2002a).

c) Fonte de luz

O espectro de emissão da fonte luminosa bem como a intensidade e o tempo de exposição podem interferir na intensidade das perdas de qualidade induzidas pela luz em produtos de laticínios (BOSSET et al., 1995; BORLE et al., 2001; MORTENSEN et al., 2002c).

O espectro de emissão da luz solar abrange a faixa de radiação de 300 a 800nm (Figura 2.5) enquanto os espectros de emissão das diferentes lâmpadas fluorescentes comerciais existentes no mercado, às quais os produtos podem ser expostos, variam nesta faixa de comprimento de onda, dependendo do tipo de lâmpada (Figura 2.6). Dentro desta faixa, a luz visível abrange comprimentos de onda de 380 a 780nm, e a luz ultravioleta (UV), com maior energia, possui comprimentos de onda de 200 a 380nm (SILVERSTEIN, 1987), sendo classificado como UV-B de 280 a 315nm e UVA-A de 315 a 380nm (GUGUMUS, 2001).

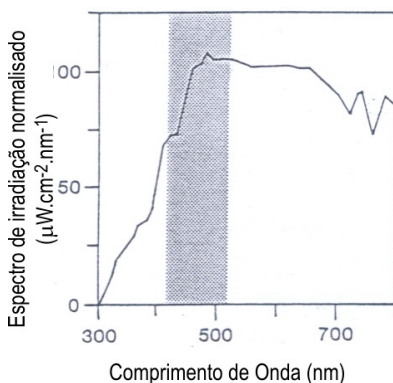


FIGURA 2.5 Espectro de emissão da luz solar (BOSSET et al., 1993).

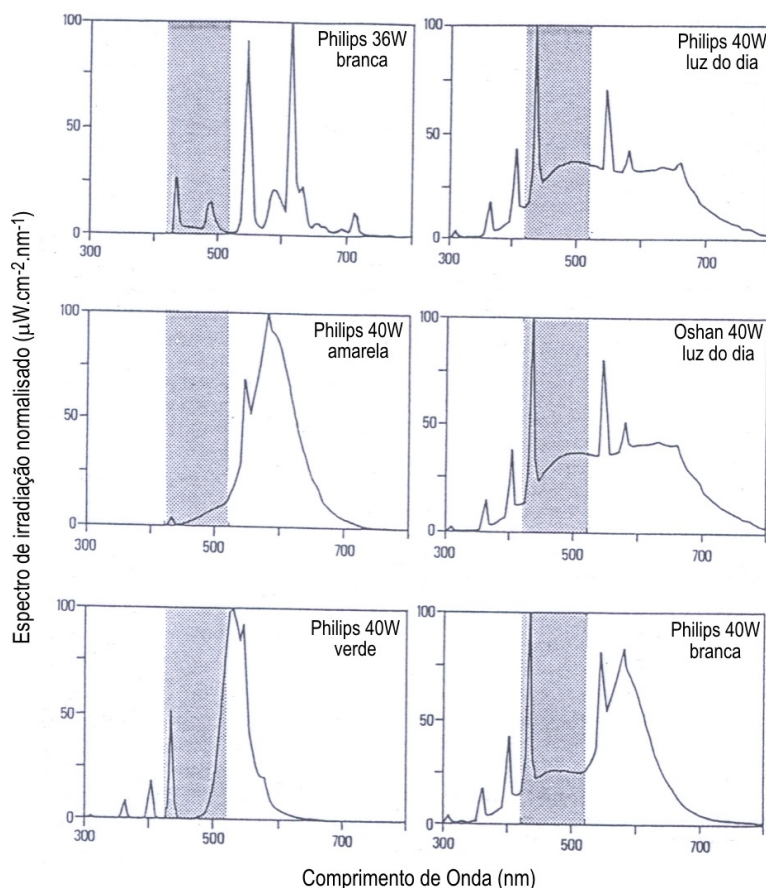


FIGURA 2.6 Espectros de emissão de diferentes lâmpadas fluorescentes (BOSSET et al., 1993).

Entretanto, tem sido bastante discutido na literatura (BOSSET et al., 1995, BORLE et al., 2001) o fato da luz visível com comprimentos de onda na faixa de 420 a 520nm ser a maior causadora de problemas, especialmente em leite e seus derivados, devido à presença do fotossensibilizador riboflavina, cuja segunda faixa de maior absorção de luz é na região do visível em torno de 450nm, conforme ilustrado na Figura 2.7.

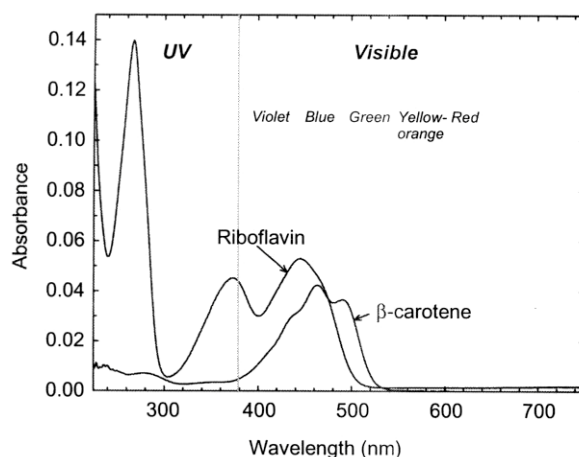


FIGURA 2.7 Espectro de absorção de luz da riboflavina e do β -caroteno (MORTENSEN et al., 2004).

A primeira banda de absorção da riboflavina (ao redor de 250nm) não é crítica porque não há emissão de luz solar ou fluorescente abaixo de 300nm (Figuras 2.6 e 2.7). A segunda banda de absorção (ao redor de 380nm) pode ou não ter interferência dependendo da absorção parcial ou total desta faixa de radiação pelo material de embalagem. Esta característica, contudo, está relacionada ao tipo de material, à utilização ou não de aditivos absorvedores de luz, de pigmentos, etc. Neste sentido, tem sido sugerido que seja evitado durante a exposição de produtos lácteos para comercialização o uso de fontes de luz com emissão na região do espectro que corresponde à terceira banda de absorção da riboflavina, ao redor de 450nm (Figura 2.7). Por isso lâmpadas com predominância dos componentes amarelo, laranja e vermelho (denominadas de “lâmpadas quentes”) devem ser preferidas às lâmpadas com maior emissão no espectro violeta, azul e verde (denominadas de “lâmpadas frias”) (MORTENSEN et al., 2002c). Vale enfatizar que a denominação “quente” ou “fria” não está associada ao calor físico da lâmpada e sim ao tom de cor que ela fornece ao ambiente (PHILIPS, 2003; OSRAM, s.d.).

Outro pigmento encontrado em leite e derivados é o β -caroteno, o qual também absorve as radiações emitidas pela luz com comprimentos de onda na faixa de 400 a 500nm (Figura 2.7). Em queijos, a riboflavina age como um fotossensibilizador (pró-oxidante), enquanto o β -caroteno atua como um anti-oxidante (seqüestrante de oxigênio singleto) minimizando seu efeito, dependendo do balanço da concentração desses dois componentes no produto em função da matéria prima (quantidade presente no leite e em

outras matérias primas) e do tipo de processamento do produto (MORTENSEN et al., 2004; 2003a; 2002c).

Além disso, a utilização de lâmpadas fluorescentes onde se excluem determinadas faixas de comprimentos de onda muda a cor da luz transmitida, resultando em alteração na aparência do produto como, por exemplo, lâmpadas fluorescentes com predominância de componentes vermelhos levam a uma percepção de coloração rósea em queijos, o que é questionável em termos de atrativo de venda (MORTENSEN et al., 2002c).

Dentro dessa linha, MORTENSEN et al. (2003b) em experimentos com queijo Havarti fatiado acondicionado em embalagem termoformada (PET/PE) com atmosfera modificada (25%CO₂, balanço com N₂ e 0,6% O₂ residual) observaram menor alteração de cor e degradação de riboflavina nos produtos expostos a lâmpadas amarelas (espectro de emissão entre 500 e 700nm, com máximo de emissão a 600nm) *versus* lâmpadas fluorescentes padrão (espectro de emissão entre 400 e 700nm), durante a estocagem do produto por 7 dias entre 3 e 10°C.

É importante mencionar ainda a importância da intensidade de luz a que o produto é exposto. Na literatura são mencionados valores de 100 a 13.000lux para a intensidade de luz a que os produtos estão sujeitos em expositores nos pontos de venda (BOSSET et al., 1995; DEGER; ASHOOR, 1987; HONG et al., 1995a; MORTENSEN et al., 2002c). Dada a grande variabilidade dessas intensidades luminosas, está sendo realizado na Dinamarca um trabalho de pesquisa com o objetivo de levantar dados sobre o espectro e intensidade das lâmpadas a que três categorias de produto (queijo e carne fatiados e cerveja) estão sujeitas durante toda a cadeia de distribuição (NIELSEN, 2003). Entretanto, os dados desta pesquisa ainda não foram disponibilizados.

No Brasil, ESPINOZA-ATENCIA (1995) levantou dados sobre a distribuição de intensidade de luz em prateleiras de exposição de óleo vegetal em 20 supermercados de Campinas e observou que a intensidade variava de 110 a 2950lux, com predominância da faixa de 400 a 1700lux.

Na literatura também são poucos os trabalhos disponíveis sobre o efeito da intensidade luminosa sobre a estabilidade de queijos.

DEGER e ASHOOR (1987) realizaram experimentos em laboratório com queijo Cheddar fatiado (dimensões de 5 X 13 cm e com espessuras de 0,6; 2,5 e 5,1cm), envolto

em polietileno transparente e exposto à 538, 1614 e 5380lux a 5-10°C por 12 dias. Foram verificados neste estudo um decréscimo no conteúdo de riboflavina no produto com o aumento da intensidade de luz e perda superficial de cor (somente perceptível ao cortar as fatias mais grossas), mas não foram constatadas alterações de sabor e odor no produto. Resultados contraditórios foram obtidos pelos mesmos autores quando da avaliação de queijos Cheddar e Colby fatiados (espessura de 3 a 4cm) expostos entre 1076 e 1937lux por 14 dias em expositores de quatro supermercados, pois ocorreu retenção de riboflavina e preservação das características sensoriais dos produtos.

Em experimentos com queijo Havarti fatiado acondicionado em embalagem termoformada (PET/PE) com atmosfera modificada (25%CO₂, balanço com N₂, 0,6% O₂ residual) não se observou diferença na oxidação do produto estocado por 7 dias entre 3 e 10°C, quando da utilização de lâmpadas com intensidade de 600 e 1200lux (MORTENSEN et al., 2003b). Entretanto, a incidência de luz monocromática com comprimentos de onda de 405 e 436nm levou à maior alteração de cor e degradação de riboflavina, além de formação significativamente maior de compostos secundários de oxidação em queijo Havarti fatiado em comparação ao quantificado no produto exposto a 366nm (MORTENSEN et al., 2003a).

Foram encontradas na literatura poucos artigos descrevendo o efeito de uma determinada fonte luminosa, em comparação à estocagem no escuro, sobre a estabilidade de queijos em pedaços ou fatiados acondicionados em sistemas de embalagem com atmosfera modificada, com baixo residual de oxigênio no interior da embalagem.

Nesta linha, os resultados obtidos por HONG et al. (1995b) em suas pesquisas sobre o efeito do tipo de embalagem e da exposição à luz fluorescente (3.500lux, 40W, luz branca fria) sobre a estabilidade de queijo Cheddar em blocos (250 – 280g), estocado por 14 dias à 8°C, demonstraram que os valores de ácido tiobarbitúrico (TBA a 532nm), medida indireta da oxidação de lipídios, bem como a descoloração superficial intensificou-se com o aumento da taxa de permeabilidade ao oxigênio dos materiais de embalagem utilizados (2 a 108cm³O₂/(m².dia) a 23°C), quando o queijo era acondicionado em embalagem contendo atmosfera rica em gás carbônico.

COLCHIN et al. (2001) também avaliaram queijo Cheddar, porém no formato de fitas (20g), acondicionado em embalagens com taxa de permeabilidade ao oxigênio da

ordem de $2\text{-}4\text{cm}^3 \text{O}_2/(\text{m}^2.\text{dia})$ contendo atmosferas de $100\%\text{CO}_2$ e de $100\%\text{N}_2$ e estocados a 4°C por 6 semanas sob luz (120 candelas) e no escuro. Os autores concluíram que embalagens com atmosferas de CO_2 inibiram a formação de compostos voláteis característicos para o desenvolvimento de sabor/odor em Cheddar e potencializaram as reações de oxidação induzidas pela luz, uma vez que foi quantificada maior quantidade de aldeídos e ácidos graxos voláteis no espaço-livre das embalagens com $100\%\text{CO}_2$ expostas à luz do que nas embalagens com esta mesma atmosfera mantidas no escuro, além de causar alteração de cor devido à descoloração do carotenóide bixina, presente no pigmento anato, usado na coloração de queijo Cheddar.

Alteração de cor e desenvolvimento de sabor e odor de ranço também foram observados em queijo semi-duro fatiado – Samsø estocado sob 1500lux a 5°C por 21 dias e acondicionado em embalagem de PA/PE ($\text{TPO}_2 = 13\text{cm}^3/(\text{m}^2.\text{dia})$, 23°C e 50%UR; transmissão de luz de 85% acima de 400nm) e com diferentes composições de atmosfera modificada ($100\% \text{N}_2$, $20\%\text{CO}_2/80\%\text{N}_2$ e $100\%\text{CO}_2$, sendo o teor de O_2 residual inferior 0,24% e o volume do espaço-livre da ordem de 370cm^3) (JURIC et al., 2003).

KRISTENSEN et al. (2000) pesquisaram o efeito da luz em queijo *Havarti* fatiado (diâmetro de 9cm, 3mm de espessura) acondicionado em embalagem termoformada à base de PET ($\text{TPO}_2 = 0,034\text{cm}^3/(\text{embalagem}.24\text{h})$) a 23°C e 50%UR; transmissão de luz de 80% acima de 400nm e sob atmosfera com $25\%\text{CO}_2/75\%\text{N}_2$ (espaço-livre de 90cm^3 ; 0,4% O_2 residual) estocado à 5°C por 21 dias no escuro e a 1000lux. Anteriormente, o produto foi maturado na embalagem por 30 dias à 5°C no escuro e no final do período de maturação o teor de O_2 do espaço-livre era ao redor de 0,02%, sendo este teor mantido nas duas embalagens durante a seqüência do estudo com e sem exposição à luz. Os autores concluíram que, mesmo em atmosfera sem O_2 , a luz promoveu uma oxidação do produto demonstrada por alterações sensoriais significativas de sabor/odor. Foram observadas ligeira alteração de cor e redução no teor de riboflavina, mas esta redução não pôde ser correlacionada diretamente com as alterações sensoriais, uma vez que maior degradação da riboflavina ocorreu a partir de 11 dias de estocagem enquanto as alterações sensoriais foram detectadas em poucos dias. As determinações de peróxidos também não foram conclusivas. Medidas por espectroscopia de ressonância eletrônica de *spin* demonstraram um decréscimo na tendência de formação de radicais livres mais rápida no queijo sob luz comparado ao mesmo produto no escuro, indicando que esta técnica pode ser aplicada no entendimento das primeiras etapas de oxidação de queijos.

MORTENSEN et al. (2002a) observaram que luz fluorescente (1300lux) causou alterações em menos de 12 horas / 3-4°C em queijo Havarti fatiado acondicionado em embalagem de OPA/PEBDL ($TPO_2 = 40\text{cm}^3/(\text{m}^2.\text{dia})$) a 23°C, 50%UR; 350g; 9 fatias de 12cmx12cmx3mm; atmosfera de 25%CO₂/75%N₂, O₂ residual ao redor de 1%; transmissão de luz maior que 90% acima de 290nm), com base em alterações de odor, avaliada pela análise de voláteis utilizando a técnica de microextração em fase sólida seguida de análise cromatográfica com detecção por espectrometria de massa, tendo sido observada a produção de produtos secundários de oxidação no espaço-livre das embalagens contendo o produto exposto a luz (1-pentanol, 1-hexanol, nonanal e benzaldeído).

Ainda continuando a pesquisa com queijo Havarti fatiado acondicionado em embalagem termoformada de PET/PE (transmissão de luz de 4,5% a 87% entre 300 a 500nm) com atmosfera modificada (25%CO₂/75%N₂, 0,6%-0,01% de O₂ residual), MORTENSEN et al. (2003b) observaram, durante estocagem sob 600 e 1200lux a 3°C e 10°C por 7 dias, que ocorreu foto-oxidação significativamente superior no produto em embalagem com 0,6% oxigênio residual no espaço-livre do que quando o residual de oxigênio era 0,01% e quando a relação produto/espaço-livre era de 1:1,5 comparativamente a 1,5:1. As conclusões foram baseadas na quantificação de 1-pentanol no espaço-livre.

Esses mesmos autores (MORTENSEN et al., 2003c) desenvolveram um modelo para estimar a foto-oxidação em queijo Havarti fatiado, quantificada pela formação de 1-hexanol e 1-pentanol no espaço-livre, usando a técnica de superfície-resposta para produto acondicionado em embalagem (PET/PE com tampa PET/PEBD/EVOH/PEBD) com atmosfera modificada (25%CO₂/75%N₂) e teores de oxigênio residual entre 0,01 e 1%; relações de produto/espaço-livre de 1:4, 1:1,5 e 1,5:1, em estocagem no escuro e a 1200lux, durante 7 dias a 3°C. No modelo desenvolvido, somente os parâmetros tempo de estocagem e porcentagem de oxigênio foram estatisticamente significativos. Resultados contraditórios com a outra publicação (MORTENSEN et al., 2003b), foram obtidos para o efeito da relação produto/volume do espaço-livre que neste estudo não foi significativo.

d) Temperatura

Para produtos de laticínios, a temperatura de estocagem deve ser a mais baixa possível para limitar a transmissão de energia e diminuir a velocidade das reações de

fotodegradação, além de ser essencial na prevenção do desenvolvimento microbiano. Por outro lado, é importante lembrar que a solubilidade do oxigênio no produto aumenta com a diminuição da temperatura, mas que, em contrapartida, quanto menor for a temperatura de estocagem, menor é a permeação de oxigênio pelo material da embalagem. Assim, o balanço entre esses dois efeitos requer uma avaliação específica para cada caso.

Efeito significativo da temperatura associado ao efeito da luz foi verificado em queijos processados que permitem uma estocagem prolongada à temperatura de 37°C. Nesta linha, KRISTENSEN e SKIBSTED (1999) avaliaram três métodos baseados em espectroscopia de ressonância eletrônica de *spin* para avaliar a oxidação em queijo processado acondicionado em vidro com tampa metálica, sem espaço-livre, e estocado a 5, 20 e 37°C por 15 meses exposto a 2.000lux e na ausência de luz. Os autores verificaram que no início da estocagem (até 11 dias), a luz é o fator mais importante na formação de radicais livres no queijo, mas que o progresso da reação de oxidação depende da temperatura, e esta passa ser o fator determinante em queijos processados estocados por longos períodos.

Dando continuidade ao estudo com o mesmo tipo de queijo processado untável (65% GES) acondicionado no mesmo tipo de embalagem e nas mesmas condições de estocagem, KRISTENSEN et al. (2001) avaliaram a cor e a oxidação de lipídios do produto durante um ano de estocagem. Os autores observaram que a degradação de riboflavina nos produtos expostos à luz ocorreu independente da temperatura, o que não ocorreu no escuro, indicando que a luz também age como fotossensibilizador em queijos processados. À 5°C houve a formação de peróxidos, mas não foram detectados alterações nos índices de TBA a 450nm, o que, segundo os autores, indicou que em baixas temperaturas a oxidação não chegou na etapa de formação de compostos secundários de oxidação. À 37°C observou-se escurecimento significativo do produto, alteração de textura, aumento no índice de TBA e oxidação de colesterol. A conclusão foi que em altas temperaturas de estocagem, o processo de oxidação atingiu o estágio de formação dos compostos secundários de oxidação. Paralelamente, ocorreu escurecimento não enzimático do produto, que pode estar relacionado com a oxidação de lipídios ou por reação da lactose com as proteínas, levando à formação de hidroximetilfurfural, que também contribuiu na formação de pigmentos amarelos na reação com TBA.

Observa-se na literatura que são poucos os trabalhos realizados para investigação da estabilidade de queijos, especialmente para os processados. A maioria deles se refere a um produto com características que permitem sua estocagem em altas temperaturas por longo período, apresentando estabilidade microbiológica. Esta condição é muito diferente do requeijão cremoso, cujo processamento típico no Brasil não é suficiente para destruir todas as formas vegetativas nem, tampouco, os esporos de *Clostridium* (anaeróbios) e de *Bacillus* (aeróbios), requerendo, assim, estocagem sob refrigeração (MORENO; VIALTA, 2000).

Outro fato que merece destaque é que a maioria dos estudos realizados para a avaliação da estabilidade de queijos expostos à luz, envolveu produtos que apresentavam características distintas do requeijão cremoso (Cheddar, Havarti, etc.). Tais queijos, por serem opacos e apresentarem estruturas sólida, apresentam degradações fotoquímicas principalmente na superfície, pois a penetração profunda da luz neste tipo de produto não é significativa (BOSSET et al., 1995).

Soma-se a estes fatos o levantamento da complexidade dos fatores que interferem na estabilidade de produtos de laticínios, o que justifica que a sensibilidade à luz deve ser investigada para cada produto individualmente.

Não foram encontrados na literatura técnica estudos que envolvessem a avaliação da estabilidade de requeijão cremoso sob a ação da luz. Em estocagem de 2-4°C por 60 dias no escuro, requeijão cremoso produzido por acidificação direta e por ultrafiltração e acondicionado sob vácuo em copo de vidro com tampa de folha-de-flandres não apresentaram alterações físico-químicas e microbiológicas (SILVA, 2003).

2.4 Tipos e características de embalagens utilizadas para requeijão cremoso

A principal forma de comercialização do requeijão cremoso no Brasil é em copos de vidro (DATAMARK, 2004; KAMIO, 2003), sendo o mais comercializado o que possui capacidade para 250g de produto e fechamento com tampa de 75mm de diâmetro em folha-de-flandres, com sistema de fácil abertura. Outras formas podem ser encontradas, como por exemplo, o copo em formato *slim*, mais alto e com boca mais estreita (diâmetro 67mm), com capacidade de 240 ou 250g, com tampa de aço com ou sem sistema de fácil abertura. Os sistemas de fechamento com fácil abertura possuem um septo de borracha vedando uma perfuração no centro da tampa de folha-de-flandres, sendo que, com a sua retirada, ocorre a perda do vácuo

interno e, portanto, a fácil retirada da tampa, sem a necessidade de utilização de qualquer utensílio para tal. O sistema de fixação e a hermeticidade deste sistema de fechamento são garantidos pelo vácuo interno formado na embalagem, quando do resfriamento do produto e pelo anel de vedante da tampa. O nível de vácuo é mantido praticamente inalterado durante toda a vida útil do produto devido às características de barreira a gases da embalagem de vidro associada a um sistema de fechamento hermético com tampa metálica. Quando a tampa não apresenta o sistema de fácil abertura, esta é fabricada em alumínio (atualmente importada), sendo acravada ao copo (com virola) para a garantia da hermeticidade do sistema de fechamento.

Copos de vidro de menor capacidade (140 gramas) podem ser encontrados também no mercado nacional, especialmente para requeijão condimentados com diferentes sabores como salmão, peito de peru, etc. (AUMENTA..., 2000).

O período de vida útil do requeijão cremoso em copos de vidro praticado no mercado brasileiro varia de 45 a 90 dias ou 5 meses, dependendo do processo de fabricação do produto, convencional ou pelo sistema de ultrafiltração, respectivamente.

Outro tipo de embalagem rígida utilizada no mercado são as plásticas no formato de copos, potes, bandejas ou baldes, fabricadas com polipropileno (PP) ou polietileno de alta densidade (PEAD) sem pigmentação ou pigmentadas de branco. A opção entre PP ou PEAD depende, principalmente, de um balanço entre desempenho mecânico desejado (geralmente relacionado com peso líquido de produto), disponibilidade de fornecedores e custo.

De maneira geral, embalagens plásticas rígidas que acondicionam menor quantidade de produto (até 250g) são fabricadas pelo processo de injeção ou termoformação e são termosseladas com selo de estrutura alumínio/verniz termosselante ou alumínio/filme plástico e fechadas posteriormente com uma sobretampa plástica. Um recurso utilizado é termoformar o corpo da embalagem a partir de uma chapa mais grossa, de modo a ter uma embalagem com paredes mais espessas, que resistam sem colapsar ao vácuo formado durante o resfriamento do produto, uma vez que este é acondicionado ainda quente na embalagem, ou escolher um formato mais apropriado (maior diâmetro, menor altura, etc.).

Para o mercado institucional de requeijão cremoso são geralmente utilizados baldes de PEAD, fabricados pelo processo de injeção, de modo a ter maior uniformidade da

espessura e menor orientação e assim evitar o colapso pelo vácuo formado durante o resfriamento do produto. O fechamento dos baldes é com tampa de pressão e a estanqueidade do fechamento depende do perfeito ajuste entre as dimensões da tampa e do balde. Na maioria dos casos as tampas possuem sistemas como lacres de segurança que permitem a fácil visualização de ocorrência de violação do produto. Estas embalagens são normalmente comercializadas em capacidade de 3,6kg e o produto nelas acondicionados apresentam prazo de validade variando de 45 a 75 dias.

Atendendo ao crescimento do mercado de embalagens porcionadas, o requeijão cremoso também é comercializado em *blisters* (bandeja termoformada) de poliestireno (PS), contendo 20 gramas de produto. O fechamento desse sistema é garantido por termossoldagem de um selo de alumínio/material selante. Para o mercado institucional, 144 unidades são acondicionadas em caixa de papelão (2,9kg) e o produto apresenta prazo de validade de 60 dias (REQUEIJÃO..., 2000). No varejo, este tipo de embalagem é comercializado em bandejas de 8 unidades.

Também tem aumentado a utilização de embalagens plásticas flexíveis para requeijão cremoso, tanto para consumo doméstico como institucional. O tipo de estrutura mais comum é composto de PET/PE. Nestas embalagens o PET fornece à estrutura resistência mecânica, barreira ao oxigênio, brilho e é um ótimo substrato para impressão. A termosselabilidade da embalagem é obtida com o filme de PE, que também age como barreira ao vapor d'água. Observa-se que o filme de PE algumas vezes é pigmentado de branco quando não é transparente e que a espessura é definida em função da resistência da termossoldagem necessária, dependendo da quantidade de produto a ser acondicionada. Quando é necessária maior resistência mecânica também é comum a utilização de estrutura PA/PE (KAMIO, 2003; SELOVAC..., 2003), que também pode apresentar melhor barreira ao oxigênio dependendo da espessura e do tipo de PA utilizada.

A embalagem plástica flexível pode possuir um formato de bico (AUMENTA..., 2000) ou ter um formato triangular para facilitar a dosagem do produto no momento de seu uso (KAMIO, 2003). Pode acondicionar de 100 a 400g (mercado varejista) e de 1kg a 10kg (mercado institucional) (EMBALAGEM..., 1998; KAMIO, 2003).

Também são utilizadas para requeijão cremoso embalagens flexíveis auto sustentáveis (*stand-up pouches*), também fabricadas com a estrutura PET/PE, contendo

250g de produto e embalagens tipo *sachet*, contendo 20g de produto, utilizando a estrutura de PET/alumínio/PE (AUMENTA..., 2000).

Observou-se no mercado, que a vida útil do requeijão cremoso acondicionado em embalagens plásticas flexíveis ou rígidas varia entre 45 dias a 3 meses e que não há correlação entre este período e utilização de embalagem com melhores ou piores propriedades de barreira a gases, umidade ou a luz.

No mercado nacional são encontrados queijos fundidos importados, submetidos ao tratamento térmico UHT, acondicionados em potes plásticos com períodos de vida útil de 6 a 12 meses. Com este mesmo tipo de processo, iniciou-se no Brasil a comercialização de requeijão cremoso acondicionado em embalagem cartonada asséptica (VAN DENDER, 2000) com validade de 6 meses a temperatura ambiente (REQUEIJÃO..., 2001).

No mercado internacional, as bisnagas de alumínio ou plásticas são outras opções de embalagens para queijos fundidos cremosos (BERGER et al., 1997b). Uma opção tecnológica interessante para o requeijão cremoso se tornar mais competitivo e atraente seria o acondicionamento do produto em bisnagas plásticas. Este tipo de embalagem atende a vários apelos do mercado atual, tais como conveniência durante o consumo do produto principalmente por crianças; velocidade de produção pelo fato das bisnagas poderem ser enchidas e fechadas pelo fundo; sistema de fechamento hermético, além de contar com um diferencial importante que é a exposição vertical do produto nas gôndolas dos supermercados (HABERLI, 2003; ANDRADE, 2004).

Portanto, existem diferentes tipos de embalagem em uso para acondicionar requeijão cremoso ou que apresentam potencial para serem utilizadas. Entretanto, até o momento, não se dispõe de estudos sobre a estabilidade de requeijão cremoso ao longo da estocagem nessas embalagens e quais os principais fatores que interferem na vida útil do produto. A falta dessas informações impede a otimização dos sistemas de embalagem em uso e dificulta a implementação de materiais alternativos para esta categoria de produto.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo iniciou-se com a escolha e caracterização dos tipos de embalagens que foram estudadas. Para tanto, optou-se por estudar embalagens que já estavam sendo utilizadas no mercado que foram: copo de vidro com tampa metálica abre-fácil e o pote plástico de polipropileno termosselado e embalagens que apresentavam potencial de uso devido a sua praticidade e menor custo como o copo de vidro termosselado e as bisnagas plásticas coextrudada e de polietileno. Além disso, os tipos de embalagens selecionadas apresentavam as variações desejáveis para o estudo quanto a diferenciação em termos de barreira ao oxigênio, umidade e luz, disponibilidade de oxigênio no espaço-livre, etc.

Na sequência optou-se pelo processo de fabricação do requeijão cremoso a partir de massa obtida por acidificação direta a quente, por ser este tipo de processo cada vez mais sendo utilizado nas empresas e porque possibilitava melhor controle de todas as etapas de fabricação, o que permitiu uma padronização do produto em todos os processamentos efetuados durante o estudo.

Também foram selecionadas as temperaturas de estocagem de 4°C, por ser a temperatura que normalmente os requeijão são estocados nas empresas, quando ainda estão nas embalagens de transporte (caixas de papelão) e, de 10°C por ser a temperatura das gôndolas dos supermercados.

Inicialmente o estudo foi conduzido sob duas temperaturas de estocagem, $4\pm 2^{\circ}\text{C}/80\text{-}90\%\text{UR}$ e $10\pm 2^{\circ}\text{C}/75\text{-}85\%\text{UR}$, sendo as embalagens mantidas no escuro para **estudar a estabilidade do requeijão cremoso em ausência de luz**. Foram realizados dois processamentos em períodos distintos, visando a confirmação/reprodução dos resultados obtidos (1º e 2º Processamentos).

Nos pontos de venda, entretanto, este tipo de produto é comercializado sob temperatura refrigerada em torno de 10°C e exposto a uma certa intensidade de luz. Assim, em uma segunda etapa deste estudo, procurou-se avaliar a influência da luz na estabilidade do requeijão cremoso nas diferentes embalagens selecionadas.

Optou-se por primeiramente expor as embalagens anteriormente mantidos por 30 dias na ausência da luz (3º Processamento) visando avaliar preliminarmente o efeito da incidência de luz na estabilidade do requeijão cremoso nas cinco embalagens avaliadas no 1º e 2º Processamentos, estocadas à temperatura de 10°C e sob 1000lux. Este

procedimento foi necessário para se obter mais dados da estabilidade do produto sob a ação da luz, que foram utilizados como subsídios para a continuidade do estudo. Na seqüência, foram realizados outros dois processamentos (4º e 5º Processamentos), visando comprovar o efeito da incidência da luz na qualidade do requeijão cremoso.

3.1 Embalagens

3.1.1 Descrição

Estudou-se cinco tipos de embalagem descritos e ilustrados na Tabela 3.1.

No 1º processamento foram utilizados dois tipos de copo de vidro (VAF e VS) com diâmetro de boca de 74mm. A partir do 2º processamento estes copos foram substituídos por outros similares, porém, de menor diâmetro de terminação (67mm), uma vez que foi identificada uma tendência de alteração deste tipo de embalagem no mercado, por levar a uma redução no custo da tampa. Do mesmo modo, nos processamentos onde avaliou-se o efeito da luz (3º, 4º e 5º), as bisnagas plásticas (B. Coex e B. PE) foram substituídas por outras de mesmo material, mesmas dimensões, porém sem pigmentação de branco.

Pelo fato de, no decorrer do estudo, terem sido efetuados 5 processamentos em épocas distintas, no 5º processamento nem todas as embalagens foram avaliadas em virtude de problemas mecânicos no equipamento de fechamento do copo de vidro selado (VS) e pela exclusão da bisnaga de PE sem pigmentação, que nos processamentos anteriores teve comprovada a sua baixa proteção do requeijão cremoso quando exposto à luz (vida útil curta).

TABELA 3.1. Embalagens de requeijão avaliadas.

Tipo	Descrição	Característica específica	Ilustração
VAF	Copo de vidro com sistema de fechamento composto por tampa metálica e sistema de fácil abertura	Diâmetro da terminação de 74mm	
		Diâmetro da terminação de 67mm	
VS	Copo de vidro com sistema de fechamento por termossoldagem de selo de alumínio	Diâmetro da terminação de 74mm	
		Diâmetro da terminação de 67mm	
Pote PP	Pote plástico termoformado de PP, não pigmentado e com sistema de fechamento composto por selo termosselado de alumínio e sobretampa plástica de encaixe		
B. Coex	Bisnaga plástica coextrusada, composta de PEBD-PEAD/EVOH/PEBD-PEAD, (a) pigmentada de branco e (b) sem pigmentação – transparente		 (a)
B. PE	Bisnaga plástica de PE, composta de uma blenda PEBD-PEAD, (a) pigmentada de branco e (b) sem pigmentação – transparente		 (b)

PP = polipropileno; PEBD = polietileno de baixa densidade; PEAD = polietileno de alta densidade; EVOH = copolímero de etileno e álcool vinílico

3.1.2 Ensaios de caracterização das embalagens

As embalagens foram caracterizadas quanto a dimensões, peso, capacidade volumétrica, distribuição de espessura, taxa de transmissão ao oxigênio (TPO₂), taxa de transmissão ao vapor d'água (TPVA) e transmissão de luz. Os selos de alumínio foram caracterizados quanto à gramatura.

Dimensões

A caracterização dimensional das embalagens compreendeu determinações de altura total e diâmetros do corpo em várias regiões, conforme as posições esquematizadas nas Figuras 3.1 a 3.4 (ASTM D2911-94, 2001; ABNT NBR14910, 2002).

A determinação da altura total foi feita com um traçador de altura “Mitutoyo”, modelo 520-162 com resolução de 0,02mm. As medidas do diâmetro foram obtidas com um paquímetro “Mitutoyo” – modelo 532, com resolução de 0,05mm.

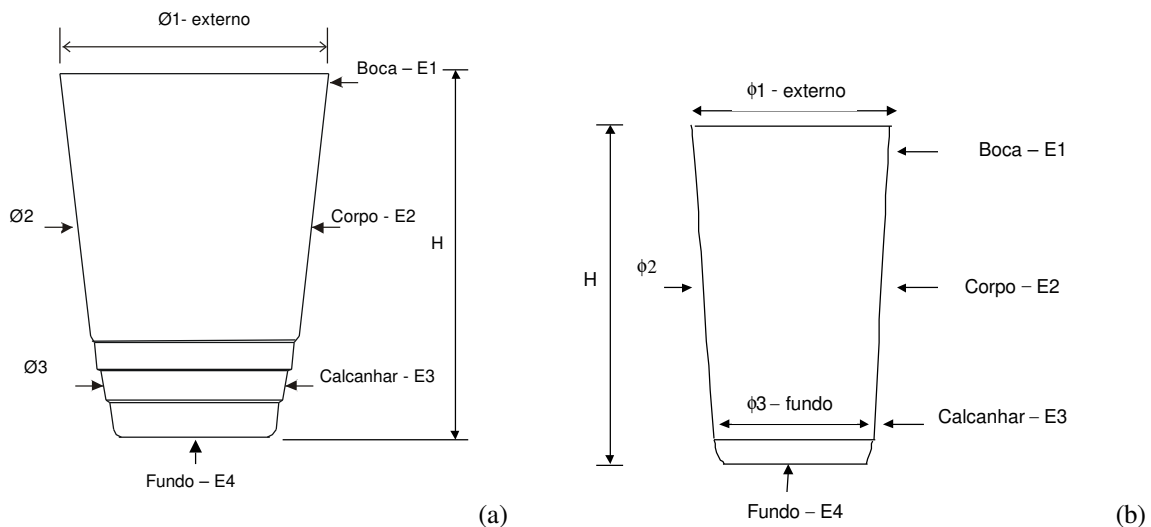


FIGURA 3.1. Representação esquemática do **copo VAF** (a) com Ø74mm utilizado no 1º processamento e (b) com Ø67mm utilizado a partir do 2º processamento, indicando as grandezas dimensionais e os planos de medição da espessura da parede.

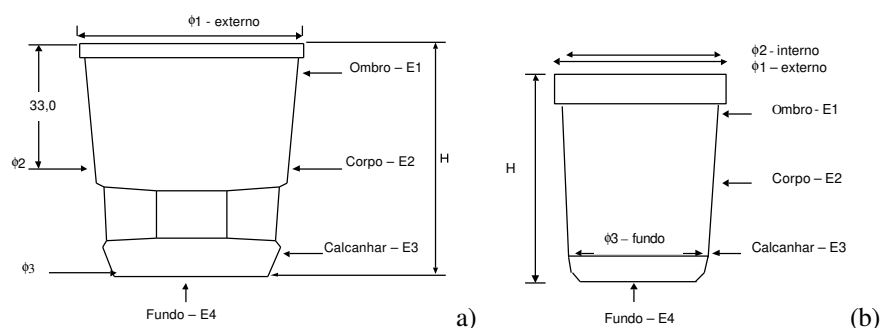


FIGURA 3.2. Representação esquemática do **copo VS** (a) com Ø74mm utilizado no 1º processamento e (b) com Ø67mm utilizado a partir do 2º processamento, indicando as grandezas dimensionais e os planos de medição da espessura da parede.

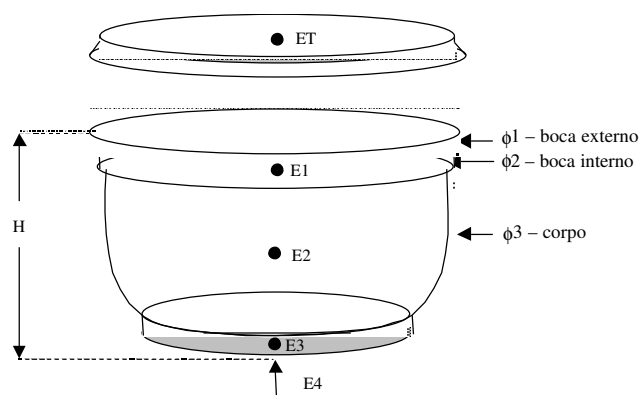


FIGURA 3.3. Representação esquemática do **pote de PP**, indicando as grandezas dimensionais e os planos de medição da espessura da parede.

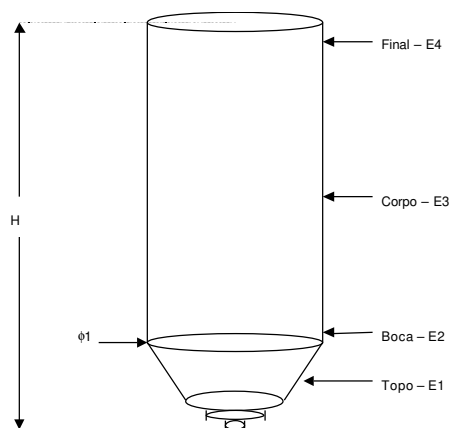


FIGURA 3.4. Representação esquemática das **bisnagas Coex e PE**, indicando as grandezas dimensionais e os planos de medição da espessura da parede.

Peso e capacidade volumétrica

As determinações de peso e a capacidade volumétrica total das embalagens foram feitas utilizando-se balança de precisão Mettler, modelo PM 6100, com resolução de 0,01g. A capacidade volumétrica total foi determinada por meio da massa (g) de água necessária para encher totalmente a embalagem, efetuando-se posteriormente as correções em função da temperatura e densidade da água durante o ensaio (ASTM D2911-94, 2001; ABNT NBR14910, 2002).

Distribuição de espessura

A distribuição da espessura foi avaliada por meio de determinação da espessura média em várias regiões ao longo da altura das embalagens, conforme apresentado nas Figuras 3.1 a 3.4. Utilizou-se um medidor de espessura Magna Mike, Parametrics, modelo 8000 com esferas de diâmetro de 1/8pol (embalagens plásticas) e 3/16pol (embalagens de vidro) e resolução de 0,001mm (ASTM D4166-94, 1994; ABNT NBR14910, 2002).

Nas bisnagas coextrusadas a espessura da camada barreira (EVOH) foi determinada por microscopia ótica, utilizando-se microscópio invertido Metaval operando com aumento de 200 vezes, acoplado ao sistema de análise de imagem Axio Vision, ambos da empresa Zeiss. Para melhor visualização da camada barreira esta foi tingida com iodo. Foram avaliados quatro corpos-de-prova retirados de diferentes regiões do corpo de duas bisnagas e, em cada um deles, foram feitas cinco medidas, totalizando 20 determinações de espessura por amostra.

Gramatura do selo de alumínio

As gramaturas total e parcial foram determinadas por meio de balança analítica Mettler, modelo AT 400 com resolução de 10^{-4} g. A separação dos materiais para a determinação da gramatura parcial de alumínio foi efetuada com solvente adequado (ASTM D646-96, 2001).

Taxa de transmissão de oxigênio (TPO₂)

A TPO₂ das embalagens foi determinada por método coulométrico, segundo procedimento descrito na norma ASTM F1307-02 - *Standard test method for oxygen transmission rate through dry packages using a coulometric sensor* (ASTM F1307-02, 2002), em equipamento OXTRAN, modelo 2/20, da MOCON, operando com o ar ambiente como gás permeante, à temperatura de 23°C. Durante o ensaio o fluxo de gás de arraste foi mantido a 10mL/min. Cada embalagem com tampa foi furada, onde dois tubos de cobre de 1/8pol, ligados ao equipamento OXTRAN, foram fixados com cola epoxi 5 minutos, marca Devcon, e, após a secagem desta cola, também foi aplicado na região de fechamento um cimento de resina epóxi, marca Metalset A4, para garantir a hermeticidade do sistema. A área efetiva de permeação foi equivalente à área da embalagem. Os resultados obtidos foram corrigidos para 0,21atm de pressão parcial de oxigênio.

Taxa de transmissão ao vapor d'água (TPVA)

A TPVA das embalagens foi determinada por meio do método gravimétrico segundo a metodologia ASTM D4279-95 - *Standard test method for water vapor transmission of shipping containers – constant and cycle methods* (ASTM D4279-95, 1995). Esse método se baseia no aumento de peso do cloreto de cálcio anidro (CaCl₂), colocado no interior da embalagem. O ganho de peso foi quantificado em balança analítica Mettler, modelo AT 400, com resolução de 10⁻⁴g. O condicionamento foi feito em câmara climatizada Vötsch, modelo VC 0033, com controle de temperatura e umidade relativa. O ensaio foi realizado a uma temperatura de 38°C e 90%UR.

Transmissão de luz

A percentagem de transmissão de luz total foi determinada em espectrofotômetro UV – visível de duplo feixe, marca Perkin Elmer, modelo Lambda 6 / PECSS System, equipado com detector de esfera integrada na faixa de 200 a 800nm, com velocidade de varredura de 120nm/min (ASTM D1003-95, 2001; ASTM D1746-96, 2001; ABNT NBR14910, 2002).

3.2 Requeijão cremoso

3.2.1 Processamento

Em cada processamento, aproximadamente 1.100 litros de leite cru foram aquecidos à 80°C, adicionando-se a seguir ácido láctico diluído em água filtrada para precipitar as proteínas do leite. Após agitação o leite foi o leite coagulado foi mantido em repouso por cerca de 10 minutos para obter uma massa firme. A massa obtida foi posteriormente dessorada, enformada e prensada em prensa pneumática por 30min de cada lado, utilizando 3,5kgf/cm². Em seguida, a massa foi estocada em câmara à 4°C por cerca de 12-14 horas, sendo então fracionada e homogeneizada para a realização dos ensaios físico-químicos (pH, extrato seco total e gordura), necessários para os cálculos da formulação, efetuados de acordo com FERNANDES (1981d) e para o processo de fusão da massa. Para a fusão da massa utilizou-se uma máquina trituradora e homogeneizadora Stephan UMM SK-40E. Utilizou-se 1,8% de sal fundente à base de polifosfatos de sódio (Joha S9) e 0,8% de cloreto de sódio. O aquecimento foi feito principalmente por injeção direta de vapor sendo, a seguir, efetuado o enchimento das embalagens com o produto ainda quente (70 a 90°C) (Figura 3.5).

Tendo em vista a necessidade de se obter quantidade suficiente de produto para ser acondicionado em cada tipo de embalagem (cerca de 150 unidades/tipo de embalagem) e a capacidade da máquina de fusão utilizada ser de 18 – 20kg/batelada, foram feitos cerca de 12 a 15 processos de fusão em cada processamento.

3.2.2 Acondicionamento do produto e fechamento das embalagens

Durante o acondicionamento do requeijão cremoso nas embalagens avaliadas, a temperatura média de enchimento do produto, em todas as embalagens, oscilou entre 70 e 90°C. O enchimento das embalagens foi realizado manualmente no 1º e 2º processamentos e a partir do 3º processamento foi utilizada uma dosadora semi-automática marca Biasinox, com funil de enchimento aquecido com camisa de vapor para controlar a temperatura de enchimento do produto nas embalagens.

O fechamento dos copos de vidro com tampa de folha-de-flandres abre-fácil (VAF) foi efetuado em equipamento específico da Metalgráfica Rojek, com cabeçote especial com injeção de vapor, operando com pressão de até 2kgf/pol². Neste caso, devido ao enchimento a

quente do produto e à injeção de vapor antes do fechamento, a fixação da tampa ocorre pela formação do vácuo no interior da embalagem, após o resfriamento do produto, não sendo necessária nenhuma fixação mecânica adicional do sistema de fechamento.

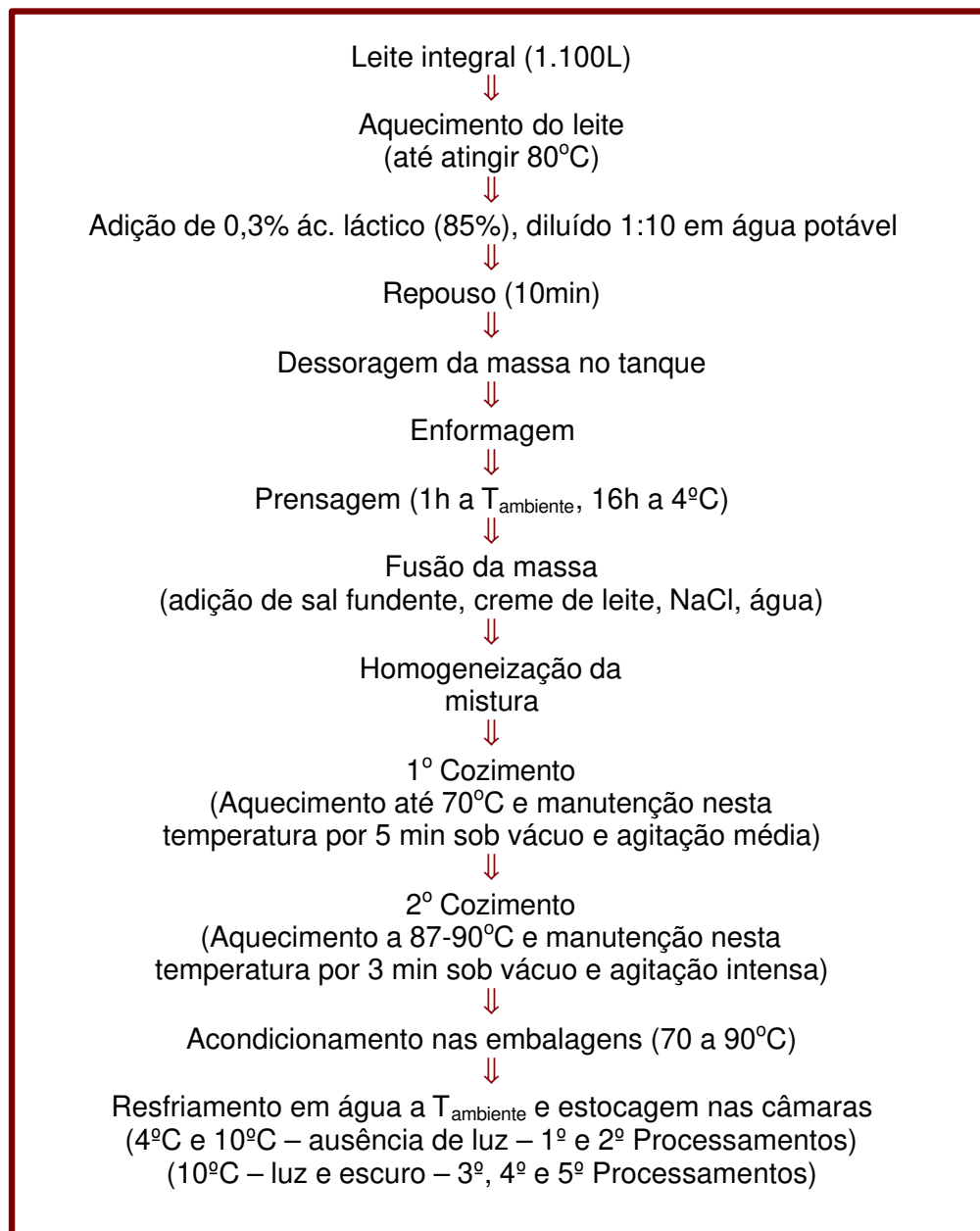


FIGURA 3.5. Fluxograma geral das etapas de fabricação de requeijão cremoso, a partir de massa obtida pela acidificação direta a quente.

A aplicação do selo de alumínio na terminação do copo de vidro (VS) foi feita em termosseladora Alcan Ohler, adaptada com um revestimento de borracha *Viton* no cabeçote de fechamento (selagem por condução). As condições de termosselagem variaram entre temperaturas de 220-260°C, pressão de 1,5bar por um tempo de 7-9 segundos. Previamente, foi necessária a aplicação de um tratamento na terminação do copo de vidro, denominado de *Volan*, visando permitir a adesão do selo de alumínio à embalagem de vidro.

A aplicação do selo de alumínio na terminação do pote de PP foi efetuada em termosseladora Brasholanda, modelo Selopar II, com controle manual de pressão e tempo de selagem, utilizando-se uma temperatura de 250-280°C por 8-10 segundos (selagem por condução).

Nas bisnagas o produto foi introduzido através do fundo da embalagem, sendo esta região posteriormente fechada por termossoldagem em equipamento específico, marca Kalix. A condição de fechamento da bisnaga branca (pigmentada) foi de 3,0 segundos de aquecimento e 2,0 segundos de resfriamento, enquanto que a condição de selagem da bisnaga transparente foi de 1,5 segundos de aquecimento e 1,5 segundos de resfriamento. Esta diferença ocorreu pela necessidade de troca da resistência de selagem do equipamento entre os processamentos realizados (selagem por impulso elétrico).

Após o fechamento, as embalagens foram numeradas sequencialmente, diferenciadas por batelada (cada processo de fusão), resfriadas em água e estocadas em câmara à 4°C±2°C. No dia seguinte, após retirada de amostras para realização das análises físico-químicas e microbiológicas, as embalagens foram divididas e transferidas para as câmaras de estocagem com as devidas condições de cada etapa do estudo, que serão descritas posteriormente.

3.2.3 Ensaios de caracterização inicial do produto

Em todos os processamentos realizados, foram coletadas amostras do leite cru, do leite após tratamento à 80°C e da massa de requeijão triturada para as análises microbiológicas (contagem de microrganismos psicrotróficos e mesófilos, coliformes totais e fecais, microrganismos esporogênicos anaeróbicos e aeróbicos psicrotróficos e mesófilos e bolores e leveduras). Esses mesmos ensaios microbiológicos foram efetuados

nos produtos acondicionados nos diferentes tipos de embalagem após 1 dia de fabricação, tendo sido amostradas duas unidades de cada tipo de embalagem.

Após 1 dia de fabricação também foram feitas análises físico-químicas (pH, acidez, sal, extrato seco total, gordura, gordura no extrato seco (GES), proteína total, nitrogênio solúvel, lactose, cinzas, cálcio, magnésio, fósforo e atividade de água). Para tanto, foram amostradas duas unidades de cada tipo de embalagem, cujos produtos foram previamente misturados para compor uma amostra única, sendo então submetida às análises físico-químicas.

As metodologias utilizadas nos ensaios microbiológicos e físico-químicos encontram-se descritas a seguir.

Microorganismos psicrotróficos e mesófilos

Contagens determinadas por inoculação em profundidade de diluições apropriadas da amostra em Ágar Padrão para Contagem (Merck, Darmstadt, Ge) adicionado de cloreto de trifeniltetrazol (TTC) Merck, e incubação à $7\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 10 dias (contagem de psicrotróficos) (FRANK et al., 1992) e incubação à $32\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 ± 3 horas (contagem de mesófilos) (HOUGHBY et al., 1992).

Bactérias esporogênicas aeróbias

Determinadas por espalhamento em superfície de diluições apropriadas da amostra previamente tratadas à 80°C durante 15 minutos, em Ágar PCA Merck adicionado de 0,1% de amido solúvel marca Synth e incubação à $7\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 10 dias (psicrotróficas) e à $32\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 ± 3 horas (mesófilas) (FRANK et al., 1992).

Bactérias esporogênicas anaeróbias

Contagem determinada pela técnica do número mais provável inoculando-se diluições apropriadas da amostra previamente tratada à 80°C durante 15 minutos, em leite em pó reconstituído 10%, com selo de Ágar Merck e incubação à $7\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante $3\pm$ horas (psicrotróficas) e à $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 72 ± 3 horas (mesófilas) (BERGÈRE; SIVELÄ, 1990).

Coliformes totais e fecais

Contagem determinada pela técnica do número mais provável inoculando-se diluições apropriadas da amostra em caldo verde brilhante Merck e incubação à $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 ± 3 horas (CHRISTEN et al., 1992).

As amostras com resultados positivos de coliformes totais foram inoculadas em caldo EC-MUG Merck e incubação à $44,5\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 3 horas (CHRISTEN et al., 1992).

Bolores e leveduras

Contagem avaliada pelo método de espalhamento em superfície de diluições apropriadas da amostra em Ágar Potato Dextrose (PDA) Oxoid acidificado a pH 3,5 (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, En) e incubação à $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 5 dias (FRANK et al., 1992).

pH

O pH foi determinado por leitura direta em um potenciômetro (pH-Metro) digital com eletrodo de vidro combinado, marca Micronal B-375.

Acidez titulável

A acidez foi determinada por titulação com NaOH 0,1N, sendo expressa em percentagem de ácido láctico (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

Cloreto de sódio (NaCl)

O teor de sal foi determinado adicionando-se uma quantidade conhecida e em excesso de nitrato de prata para reagir com o NaCl. Em seguida, o excesso de nitrato de prata adicionado foi quantificado por titulação com tiocianato de amônia e a quantidade de NaCl determinada por diferença (SERRES et al., 1973).

Extrato seco total (EST)

O teor de extrato seco total (EST) foi determinado pelo método de secagem da amostra misturada com areia tratada, em estufa entre 102 e 104°C até peso constante (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1982).

Gordura

Para a determinação do teor de gordura do requeijão utilizou-se o método de Gerber-van Gulik (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

Gordura no extrato seco (GES)

O teor de gordura no extrato seco (GES) foi calculado pela fórmula: $GES = (\%gordura / \%EST) \times 100$.

Nitrogênio total (Nt) e Proteína total (Pt)

O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método oficial de Kjeldahl, segundo o INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (1962; 1964). O teor de proteína total foi calculado multiplicando-se o conteúdo de nitrogênio total pelo fator 6,38.

Nitrogênio solúvel (Ns)

O teor de nitrogênio solúvel (Ns) em pH 4,6 foi determinado pela dosagem do nitrogênio solúvel no sobrenadante obtido após precipitação isoeletrica das caseínas utilizando HCl 1,41N (VAKALERIS; PRICE, 1959).

Lactose

O teor de lactose foi determinado de acordo com o método fenol sulfúrico espectrofotométrico adaptado de ACTON (1977).

Cinzas

O teor de cinzas do requeijão foi determinado em mufla regulada para a temperatura de $550 \pm 5^{\circ}\text{C}$ (HORWITZ, 1975).

Minerais (Cálcio, Fósforo e Magnésio)

O teor de minerais foi determinado em um espectro de emissão de plasma (BAIRD) conforme recomendações de IMO INDUSTRIES INC. IPC. (1990).

Atividade de água (Aa)

A atividade de água foi determinada em um higrômetro baseado em psicrometria de marca Decagon – Aqualab, com resolução de 0,001 Aa. Este equipamento é acoplado a um banho termostaticado, de marca Brookfield, modelo TC500, com resolução de $0,1^{\circ}\text{C}$. As determinações foram feitas à $25,0 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ (DECAGON, s.d.).

3.3 Estudo da estabilidade do produto no escuro

Na primeira etapa deste trabalho de tese, efetuou-se a avaliação da estabilidade do produto nas diferentes embalagens estocado em ausência de luz (no escuro) à $4 \pm 2^{\circ}\text{C}/80\text{-}90\%\text{UR}$ e à $10 \pm 2^{\circ}\text{C}/75\text{-}85\%\text{UR}$. Nesta etapa foram realizados dois processamentos (1º e 2º processamentos), visando a confirmação dos resultados.

Periodicamente, foram retiradas amostras para avaliação das embalagens quanto à composição gasosa e ao volume de gases do espaço-livre e para avaliação do produto quanto as características microbiológicas (contagem de microrganismos psicotróficos e mesófilos, microrganismos esporogênicos anaeróbicos e aeróbicos psicotróficos e mesófilos e bolores e leveduras), físico-químicas (pH, nitrogênio total, nitrogênio solúvel, índice de extensão de proteólise e índice de TBA) e sensoriais. Também foram determinados o peso líquido de produto nos diferentes tipos de embalagem, bem como o vácuo interno nas unidades de vidro (VAF), cujo produto foi utilizado nas análises sensoriais.

A estabilidade do produto no 1º processamento foi monitorada durante 120 dias e 180 dias, respectivamente, para as embalagens estocadas à $10^{\circ}\text{C}/80\%\text{UR}$ e $4^{\circ}\text{C}/85\%\text{UR}$. Inicialmente, havia sido prevista a realização do estudo por 90 dias, mas como o produto

se mostrou bastante estável, optou-se por dar continuidade a algumas análises para maior levantamento de dados, uma vez que havia amostras disponíveis.

O estudo de estabilidade do produto do 2º processamento foi realizado nas mesmas condições do 1º processamento, com o objetivo de comprovar os resultados obtidos na 1ª etapa do trabalho, e os resultados foram levantados até 180 dias de estocagem à 10°C/80%UR e 4°C/85%UR.

As amostras foram avaliadas com periodicidade de 15 dias durante os primeiros 90 dias de estocagem e com intervalos de 30 dias após este período de estocagem.

3.3.1 Análises periódicas das embalagens

Três unidades de cada tipo de embalagem/condição de estocagem foram avaliadas em cada época de análise e as metodologias utilizadas encontram-se descritas a seguir.

Composição gasosa e volume de gases do espaço-livre

A determinação da composição gasosa do interior das embalagens (com exceção no copo VAF que será descrita posteriormente) foi efetuada por meio da coleta de alíquotas de 300µl de gás do espaço-livre, através de um septo, com seringa hermética e posterior quantificação em cromatógrafo a gás Shimadzu, modelo 14 A, operando com detector de condutividade térmica a 150°C, colunas (Peneira molecular 13X e Porapak N) a 50°C e injetor a 70°C. Os resultados de cromatografia foram analisados por um integrador Shimadzu, modelo CR4A, com base em curvas padrão feitas com gases de calibração. Os resultados foram expressos em termos de porcentagem em volume de oxigênio, nitrogênio e gás carbônico (ALVES et al., 1998).

Após a determinação da composição gasosa, as embalagens foram abertas dentro de um recipiente com água e o gás do espaço-livre foi coletado com o auxílio de um funil, em uma proveta graduada, invertida sobre o funil, que permitiu a leitura direta do volume de gases do espaço-livre, à temperatura ambiente e pressão atmosférica local (ALVES et al., 1998).

No caso do copo VAF a determinação da composição gasosa foi feita após a determinação do volume de gás do espaço-livre, sendo o gás coletado por meio de um funil acoplado a uma mangueira de borracha. O gás do espaço-livre não pode ser coletado

diretamente do espaço-livre da embalagem através de septo, devido ao vácuo existente no interior da embalagem, resultante do sistema de fechamento diferenciado desta embalagem. O volume de gases do espaço-livre coletado foi então amostrado com seringa à prova de gás para análise por cromatografia gasosa como descrito anteriormente.

Peso líquido de produto

O peso líquido de produto por embalagem foi calculado pesando a embalagem + produto e descontando um peso médio da embalagem (corpo mais tampa). As pesagens foram efetuadas em balança de precisão Mettler, modelo PM 6100, com resolução de 0,01g.

Nível de vácuo

O nível de vácuo nos copos VAF foi monitorado utilizando-se um manovacuômetro acoplado a uma agulha de perfuração, marca Willy, com resolução de 1,0pol Hg. Fez-se a determinação direta do nível de vácuo das embalagens de vidro, através das tampas de folha-de-flandres (ORTIZ et al., 1996).

3.3.2 Análises periódicas do produto

As análises microbiológicas efetuadas no produto foram realizadas utilizando-se os mesmos métodos descritos no item 3.2.3, sendo avaliadas duas embalagens de cada tipo/condição de estocagem, para cada época estudada.

As determinações físico-químicas (pH, acidez, extrato seco total, atividade de água, nitrogênio total e nitrogênio solúvel) foram feitas em duplicata em uma amostra composta de duas unidades de cada tipo de embalagem/condição de estocagem, para cada época de análise, utilizando-se os mesmos métodos descritos no item 3.2.3. Também foram analisados quanto aos índices de extensão de proteólise e TBA, cujos métodos encontram-se descritos a seguir.

Índice de extensão de proteólise

O índice de extensão de proteólise foi calculado dividindo-se os valores de nitrogênio solúvel em pH 4,6 pelos valores de nitrogênio total e multiplicando-se por 100.

Todos os valores de nitrogênio, por sua vez, foram obtidos conforme método descrito no item 3.2.3.

Índice de TBA

A determinação do índice de TBA, quantificação de compostos secundários das reações de oxidação, foi realizada por método adaptado para requeijão cremoso por VAN DENDER et al. (2002) a partir dos métodos de TBA descritos por TARLADGIS et al. (1960) e SIDWELL et al. (1955). A leitura de absorbância foi realizada a 450nm (1º, 2º e 3ºP) e a 532nm (2º, 3º, 4º e 5º P), que segundo a literatura, são os comprimentos de onda recomendados para amostras que apresentam, respectivamente, coloração amarela e rósea, quando de sua preparação para o ensaio (NAWAR,1996; HOYLAND, TAYLOR, 1991).

As determinações foram feitas em duplicata em uma amostra composta de três unidades de cada tipo de embalagem/condição de estocagem, para cada época avaliado no 1º, 2º e 3º Processamentos. No 4ª e 5º Processamentos foram feitas determinações em duplicata em três amostras de requeijão retiradas da superfície em contato com o espaço-livre para cada tipo de embalagem/condição e época de estocagem.

Análise sensorial

O requeijão acondicionado nas diversas embalagens foi avaliado sensorialmente quanto a cor, odor, sabor (gosto ácido e amargo, sabor característico e de ranço) e qualidade global. Para tanto, foi empregada uma ficha com escala linear não estruturada de 9cm, conforme apresentada na Figura 3.6. A definição dos termos sensoriais encontram-se descritos na Tabela 3.2. A escolha dos atributos sensoriais avaliados foi efetuada com base em análise descritiva quantitativa de requeijão cremoso feito por RAPACCI et al. (1999), selecionando-se os atributos que se apresentavam correlacionados com possíveis alterações sensoriais decorrentes do tipo de sistema de embalagem/condições de estocagem, estudadas nesta pesquisa.

As avaliações sensoriais foram feitas por um equipe composta de 13 provadores treinados que avaliavam uma amostra composta por três unidades de cada tipo de embalagem/condição de estocagem, para cada época avaliada.

Os provadores foram selecionados e treinados utilizando-se produtos recém produzidos com atributos característicos e produtos expostos à luz, que apresentavam atributos característicos de final de vida útil.

A análise sensorial foi feita em cabines individuais e as amostras foram apresentadas aos provadores em copos plásticos descartáveis, codificadas com números aleatórios de três dígitos, em quantidade aproximada de 50g. A ordem de apresentação das amostras servidas aos provadores seguiu um balanceamento de blocos completos aleatorizados. Juntamente com as amostras foram entregues aos provadores uma colher para cada amostra, pão de forma sem casca e água filtrada para a lavagem da boca. Todas as amostras foram servidas a $10 \pm 2^\circ\text{C}$.

Nos estudos envolvendo a avaliação da estabilidade do requeijão cremoso sob exposição à luz (3º, 4º e 5º P), verificou-se que a vida útil do produto seria limitada por alterações sensoriais. Assim, os resultados de qualidade global foram utilizados para definir a vida útil do produto em cada sistema de embalagem, uma vez que este atributo reunia todas as alterações sensoriais. Para tanto, obteve-se através de modelos de regressão no programa Statística – versão 5.0 (1995) a relação funcional entre a perda de qualidade global e o tempo de estocagem a 10°C e 1000lux e verificou-se o grau de ajuste dos modelos através do coeficiente de determinação ajustado (R^2_{adj}).

Análise Sensorial de Requeijão Cremoso	
Nome: _____	Data: ____/____/____
Instruções: Marque com um traço vertical, cortando a escala abaixo, a posição que identifique melhor a intensidade da característica avaliada.	
Odor característico	 Característico Não Característico
Cor: branco-creme	 Característica Escura
Gosto ácido	 Fraco Forte
Gosto amargo	 Nenhum Muito
Sabor característico	 Característico Não Característico
Sabor de ranço	 Ausente Forte
Qualidade Global	 Excelente Péssimo
Comentários: _____	

FIGURA 3.6. Ficha utilizada na análise sensorial do requeijão cremoso.

TABELA 3.2. Vocabulário com definições dos termos sensoriais.

Características	Definição
Odor característico	Lembra a leite fresco ou creme de leite, odor suave.
Cor: Branco-creme	Coloração característica da amostra do requeijão, variando do branco-creme homogêneo ao amarelo-pálido. Uma coloração atípica é caracterizada pela presença de manchas e pela coloração amarela.
Gosto ácido	Descreve o gosto primário produzido por solução aquosa de ácido láctico.
Gosto amargo	Descreve o gosto primário produzido por solução aquosa de sais fundentes.
Sabor característico	Lembra leite fresco ou creme de leite, sabor neutro, levemente adocicado.
Sabor de ranço	Lembra sabão, cartão, metálico.
Qualidade Global	Avaliação geral da qualidade sensorial, considerando todos os parâmetros avaliados.

3.4 Estudo de estabilidade do produto sob exposição à luz

3.4.1 Estudo preliminar

Um estudo preliminar para avaliar o efeito da incidência de luz na estabilidade de requeijão cremoso acondicionado nos diferentes sistemas de embalagens foi efetuado, visando obter subsídios para a continuidade do estudo. Assim, foram expostos à luz produtos que haviam ficado anteriormente estocados por 30 dias a 10°C no escuro.

Verificou-se na literatura internacional que a intensidade de luz a que os produtos de laticínios são geralmente expostos varia de 100 a 13.000lux (BOSSET et al., 1995; DEGER; ASHOOR, 1987; HONG et al., 1995b; MORTENSEN et al., 2002b). No Brasil, ESPINOZA-ATENCIA (1995) levantou, predominantemente, intensidade de luz de 400 a 1700lux em prateleiras de pontos de venda onde era exposto óleo vegetal.

Devido a faixa muito ampla citada em literatura e por ser a situação da exposição à luz de óleo vegetal diferente daquela que ocorre com requeijão cremoso nos pontos de venda, foi feito um levantamento sobre a intensidade de luz a que este tipo de produto era exposto em supermercados de Campinas. Os valores mínimos (prateleira mais distante da luz) e máximos (prateleira superior, mais próxima da luz) de intensidade de luz foram medidos nos locais de maior exposição em cada prateleira. Os resultados deste levantamento são apresentados na Tabela 3.3.

TABELA 3.3 Intensidade da luz nas prateleiras dos supermercados de Campinas.

Supermercado	Potência/Tipo da lâmpada fluorescente	Luminosidade do expositor (lux)
1	32W / Luz do dia	500 a 1.400
2	40W / Luz do dia	500 a 1.250
3	40W / Branca “fria”	300 a 1.300
4	30W / Luz do dia	400 a 1.500
5	2 de 20W / Branca “fria”	400 a 1.200
6	40W / Luz do dia	200 a 1.100

O levantamento da intensidade luminosa recebida pelo requeijão cremoso nos supermercados bem como o monitoramento da intensidade de luz recebida pelas amostras durante o estudo foi efetuado com luxímetro da Extech Instruments Corporation, modelo 407026, com resolução de 0,1 lux.

Com base neste levantamento de intensidade de luz praticado nos pontos de venda, optou-se por dispor, na estocagem das amostras para os estudos de estabilidade, cada tipo de embalagem em prateleiras de aço inoxidável com duas lâmpadas fluorescentes, marca Sylvania, potência 30W/155 - luz do dia, distantes cerca de 25cm da base das embalagens (Figura 3.7). As embalagens foram dispostas nas prateleiras aleatoriamente, sendo alternadas semanalmente para proporcionar maior uniformidade na incidência de luz em cada unidade. No caso dos potes de PP, também era feita a inversão do posicionamento do pote (de cima para baixo e vice-versa). A condição de estocagem das embalagens sob incidência de luz foi de $10^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $80 \pm 5\% \text{UR}$.

A intensidade luminosa da prateleira onde foram mantidas as amostras apresentou valor médio sobre a base da prateleira de 943lux (variando de 696 a 1300lux). A uma altura de cerca de 100cm da base da prateleira (praticamente parte superior das embalagens), a intensidade média foi de 1.246lux (810 a 1575lux), tendo sido efetuadas cinquenta determinações. Para facilitar sua descrição, esta intensidade luminosa foi apresentada nos resultados como sendo de 1000lux.

As avaliações periódicas feitas nas embalagens e nos produtos ao longo da estocagem foram as mesmas descritas no item 3.3, alterando-se apenas alguns ensaios físico-químicos (acidez, EST e atividade de água) que foram feitas com periodicidade variando de 4 a 7 dias, dependendo da estabilidade do produto observada no sistema de embalagem e sob luz.



FIGURA 3.7 Ilustração da disposição das embalagens na prateleira sob incidência de luz.

3.4.2 Estudos completos

Nos estudos de estabilidade do produto sob exposição à luz (4º e 5º Processamentos), as posições das embalagens nas prateleiras também foram definidas aleatoriamente, mas alternadas em menor espaço de tempo, em geral a cada 50- 60h, para se obter maior uniformidade na incidência de luz em cada unidade.

Nesta etapa do estudo, parte das amostras foi estocada sob ação da luz e parte foi estocada dentro de caixas de papelão (ausência de luz), ambas dentro de uma câmara a $10^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $80 \pm 5\% \text{UR}$.

A título de complementação, no 5º processamento, parte dos copos VAF foi invertido na prateleira, visando avaliar o produto acondicionado neste sistema de embalagem com uma maior área de exposição à luz, conforme ilustrado na Figura 3.8.



FIGURA 3.8. Ilustração dos copos VAF posicionados de forma invertida na prateleira.

As avaliações feitas nas embalagens e nos produtos foram as mesmas descritas nos itens 3.3, exceto alguns ensaios físico-químicos (acidez, EST e atividade de água). As análises foram efetuadas com periodicidade variando de 3 a 15 dias, dependendo da estabilidade do produto observada no sistema de embalagem/tipo de estocagem sob luz ou escuro e por até 60 dias (4º Processamento - escuro) e até 90 dias (5º Processamento – escuro).

3.5 Análise estatística

Os resultados de composição gasosa, índice de TBA e avaliações sensoriais foram tratados estatisticamente por meio de análise de variância (ANOVA) para avaliação dos efeitos principais (embalagem, tempo de estocagem e temperatura - 4 e 10C, na primeira etapa ou condição de estocagem - sem e com exposição à luz, na segunda etapa) e efeito das interações duplas, considerando-se para todos os parâmetros, um nível de significância de 5%.

O estudo de possíveis relações de causa-efeito entre os atributos sensoriais (desenvolvimento de sabor ranço e de perda de qualidade global) e análises físico-químicas (índice de TBA) foi realizado através de uma análise de correlação, calculando coeficientes de correlação de produto-momento de Pearson ($p=5\%$).

A previsão do tempo de vida útil do produto nas diversas embalagens sob exposição à luz, foi realizada através de análise de regressão simples ($p=5\%$), com base nos

resultados de perda de qualidade global do produto ao longo da estocagem. A qualidade do ajuste dos modelos foi avaliada através do coeficiente de determinação ajustado (R^2_{aj}).

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa STATÍSTICA - versão 5.0 (1995).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização das embalagens

Os resultados de caracterização dimensional de todas as embalagens avaliadas no estudo encontram-se apresentados na Tabela 4.1. Observa-se que, de maneira geral, as embalagens apresentaram-se de acordo com as especificações dos respectivos fabricantes.

No copo VAF – 1º processamento, o diâmetro externo da terminação apresentou 3 valores individuais abaixo do valor mínimo especificado (73,2mm). Esse parâmetro pode influenciar as características de fechamento/hermeticidade da tampa tipo abre-fácil (Tabela 4.1).

No caso VAF – utilizado nos demais processamentos, observaram-se alguns valores individuais de altura abaixo do especificado e alguns valores pontuais de peso das embalagens acima do especificado. Porém, estas diferenças, no nível quantificado, não devem afetar as características de fechamento e hermeticidade das embalagens em estudo. Com relação ao peso de embalagens de vidro, vale enfatizar que variações deste parâmetro são passíveis de ocorrer sem que haja o comprometimento da capacidade volumétrica estipulada (Tabela 4.1).

Na Tabela 4.2 são apresentados os resultados de distribuição de espessura de todas as embalagens avaliadas no estudo e na Tabela 4.3 os resultados de gramatura dos selos de alumínio utilizados no copo de vidro selado (VS) e no pote de Polipropileno (PP).

A distribuição de espessura das embalagens (Tabela 4.2), bem como a gramatura dos selos à base de folha de alumínio (Tabela 4.3), foram determinadas visando melhor caracterizar as embalagens em estudo. Observou-se em geral, uma pequena variação da distribuição de espessura para as embalagens avaliadas, com exceção do pote PP, o qual apresentou maior variabilidade de espessura para cada região determinada, exceto para a espessura da sobretampa (ET). O copo de vidro selado (VS) também apresentou uma maior variabilidade da distribuição de espessura para algumas regiões avaliadas.

TABELA 4.1 Características dimensionais¹, peso e capacidade volumétrica das embalagens.

Embalagem	Valor	Diâmetro (mm)			Altura total (mm)	Peso (g)		Capacidade volumétrica total (mL)
		Ø 1	Ø 2	Ø 3		Tampa	Copo/Pote/Bisnaga	
VAF 1º proc.	Média	73,2	53,5	-	105,5	8,7	160,6	287,9
	máximo	73,4	53,8	-	105,9	8,8	161,7	291,0
	Mínimo	73,0	53,1	-	105,2	8,5	159,6	284,7
	CV (%)	0,2	0,3	-	0,2	1,0	0,5	0,7
	Especif.	73,6±0,4	Min.52,5	-	106,0±0,8	-	160±4	284±6
VAF Demais Proc.	Média	66,3	62,2	53,4	119,4	7,9	184,1	274,7
	Máximo	66,8	62,5	53,7	119,6	8,2	185,2	275,4
	Mínimo	66,0	61,8	53,1	119,2	7,8	183,0	274,1
	CV (%)	0,3	0,2	0,3	0,1	1,6	0,4	0,2
	Especif.	66,4±0,7	-	-	120±0,7	-	180±4	280±6
VS 1º proc.	Média	73,2	106,8	54,7	81,9	7,4	131,8	209,7
	Máximo	73,4	107,0	54,9	82,0	7,6	132,1	212,0
	Mínimo	73,0	106,7	54,2	81,6	7,2	131,3	208,1
	CV (%)	0,07	0,1	0,4	0,2	1,9	0,2	0,6
	Especif.	73,6±0,4	-	-	-	-	-	-
VS Demais Proc.	Média	66,2	60,4	55,9	89,9	-	127,0	207,7
	Máximo	66,5	60,6	56,2	91,0	-	128,3	209,2
	Mínimo	66,0	60,1	55,7	89,4	-	125,6	206,8
	CV (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	-	0,8	0,4
	Especif.	-	-	-	-	-	125 aprox.	205±6/-2
Pote PP	Média	100,06	90,70	87,11	57,79	3,6	13,4	322,0
	Máximo	100,28	91,30	87,30	57,90	3,7	13,6	325,7
	Mínimo	99,84	90,40	86,90	57,54	3,4	13,2	316,3
	CV (%)	0,1	0,3	0,1	0,2	3,2	0,6	1,1
	Especif.	100,8±0,5	91,1±0,5	-	57,3±0,5	-	13,0±0,6	320±5
B. Coex Branca	Média	49,52	-	-	158,41	8,6	13,4	270,5
	Máximo	49,65	-	-	158,67	8,7	13,7	271,8
	Mínimo	49,35	-	-	157,80	8,6	13,2	269,7
	CV (%)	0,2	-	-	0,2	0,6	1,0	0,2
	Especif.	49,40±0,49	-	-	-	-	-	-
B. Coex Transp.	Média	49,55	-	-	158,03	8,7	13,8	269,1
	Máximo	49,66	-	-	158,50	8,7	14,1	269,5
	Mínimo	49,39	-	-	157,66	8,6	13,6	268,8
	CV (%)	0,2	-	-	0,2	0,5	0,8	0,1
	Especif.	49,40±0,49	-	-	-	-	-	-
B. PE Branca	Média	49,51	-	-	158,21	8,7	13,5	270,7
	Máximo	49,60	-	-	158,61	8,7	13,6	271,7
	Mínimo	49,40	-	-	157,97	8,6	13,3	269,8
	CV (%)	0,2	-	-	0,1	0,4	0,8	0,2
	Especif.	49,40±0,49	-	-	-	-	-	-
B. PE Transp.	Média	49,50	-	-	158,05	8,6	13,9	269,2
	Máximo	49,63	-	-	158,30	8,7	14,0	269,6
	Mínimo	49,43	-	-	157,57	8,6	13,6	268,7
	CV (%)	0,2	-	-	0,1	0,5	0,5	0,1
	Especif.	49,40±0,49	-	-	-	-	-	-

VAF (Vidro Abre Fácil); VS (Vidro Selado); Pote PP (Pote Polipropileno); B.Coex (Bisnaga Coextrusada);

B.PE (Bisnaga Polietileno)

CV - coeficiente de variação

1 – Posições indicadas nas Figuras 3.1 a 3.4

Valores referentes a dez determinações

Especif. = especificação do fabricante da embalagem

TABELA 4.2 Distribuição de espessura¹ das embalagens².

Embalagem	Valor	Espessura (mm)				
		ET	E1	E2	E3	E4
VAF 1º proc.	Média	-	2,4	2,8	3,7	3,8
	Máximo	-	2,6	3,4	4,8	4,4
	Mínimo	-	2,1	2,3	2,8	3,2
	CV (%)	-	8	10	14	9
VAF Demais proc.	Média	-	2,3	2,9	3,7	5,1
	Máximo	-	2,5	3,4	4,4	5,9
	Mínimo	-	2,1	2,1	3,2	4,5
	CV (%)	-	6	9	10	6
VS 1º proc.	Média	1,25	3,3	3,2	2,8	4,0
	Máximo	1,28	3,4	4,3	4,8	5,2
	Mínimo	1,23	2,6	2,5	1,8	3,3
	CV (%)	1,6	10	14	22	21
VS Demais proc.	Média	-	2,5	2,5	2,8	4,1
	Máximo	-	3,3	3,1	3,8	4,6
	Mínimo	-	2,1	2,0	2,1	3,7
	CV (%)	-	10	14	17	5
Pote PP	Média	0,35	0,66	0,54	0,53	0,84
	Máximo	0,41	1,00	0,73	0,80	1,31
	Mínimo	0,29	0,43	0,41	0,30	0,58
	CV (%)	8,8	21,5	13,5	25,0	19,9
B. Coex Branca	Média	-	1,65	0,52	0,51	0,52
	Máximo	-	1,80	0,62	0,59	0,58
	Mínimo	-	1,48	0,48	0,49	0,48
	CV (%)	-	5,0	5,1	4,3	4,7
B. Coex Transparente	Média	-	1,94	0,48	0,48	0,49
	Máximo	-	2,21	0,56	0,55	0,56
	Mínimo	-	1,69	0,45	0,45	0,44
	CV (%)	-	7,0	5,0	5,0	6,0
B. PE Branca	Média	-	1,83	0,50	0,50	0,51
	Máximo	-	2,28	0,58	0,59	0,60
	Mínimo	-	1,67	0,47	0,46	0,47
	CV (%)	-	6,0	5,9	5,3	6,9
B. PE Transparente	Média	-	2,03	0,50	0,51	0,51
	Máximo	-	2,43	0,57	0,57	0,61
	Mínimo	-	1,80	0,45	0,45	0,46
	CV (%)	-	7,0	6,0	6,0	7,0

VAF (Vidro Abre Fácil); VS (Vidro Selado); Pote PP (Pote Polipropileno); B.Coex (Bisnaga Coextrusada); B.PE (Bisnaga Polietileno)

CV - coeficiente de variação

1 – Posições indicadas nas Figuras 3.1 a 3.4

2 - Valores correspondentes a dez embalagens, sendo que para cada região foram efetuadas cinco determinações pontuais de espessura

ET= espessura da sobretampa

Também foi determinada a espessura da camada de EVOH das bisnagas Coex, e os resultados obtidos, médias de vinte determinações foram de 14,0µm (variando de 9,7 a 18,0µm) para a bisnaga pigmentada de branco e de 13,3µm (variando de 10,8 a 16,3µm) para a bisnaga sem pigmentação (transparente).

Além disso, identificou-se por DSC, que o ombro da bisnaga Coex era composto por blenda PEAD-PEBD.

TABELA 4.3 Gramaturas dos selos à base de folha de alumínio utilizados no VS e Pote PP.

Valor	Gramatura (g/m ²)			
	Selo – VS		Selo – Pote PP	
	Total	Alumínio	Total	Alumínio
Média	129,4	103,0	163,2	134,4
Máximo	130,7	103,2	165,0	136,0
Mínimo	127,6	102,7	162,0	134,0
Coeficiente de variação (%)	0,9	0,2	1,0	1,6

VS (Vidro Selado); Pote PP (Pote Polipropileno)

Valores referentes a cinco determinações

Na Tabela 4.4 encontram-se é apresentada a caracterização das embalagens quanto às propriedades de barreira ao oxigênio (TPO₂) e a umidade (TPVA) das embalagens avaliadas no estudo, com exceção do copo de vidro com tampa abre-fácil (VAF).

De acordo com a Tabela 4.4 verifica-se que o copo VS apresenta excelentes propriedades de barreira ao oxigênio e ao vapor d'água.

Não foi possível determinar as taxas de transmissão ao oxigênio e ao vapor d'água do copo de vidro com tampa abre-fácil (VAF), pois a fixação da tampa ocorre pelo vácuo interno formado a partir do resfriamento do produto. Uma vez que o vidro é um material totalmente barreira a gases e à umidade, a transmissão de oxigênio ou de vapor d'água em ambos os copos (VAF e VS) é função da hermeticidade do sistema de fechamento, ou seja, da permeabilidade do vedante aplicado na tampa metálica utilizada no VAF, bem como da forma de aplicação da tampa e da integridade da termosselagem do selo no VS, associada à barreira do selo de alumínio utilizado.

No caso das embalagens plásticas rígidas, as taxas de transmissão ao oxigênio e ao vapor d'água dependem, respectivamente, da permeabilidade ao oxigênio e ao vapor

d'água do material plástico e de características da embalagem como distribuição de espessura, área superficial, processo de fabricação e sistema de fechamento (GARCIA et al., 1989). Isto faz com que seja necessário a determinação das TPO₂ e TPVA de cada sistema de embalagem, porque vários fatores podem influir ao mesmo tempo.

TABELA 4.4. Caracterização das embalagens quanto às taxas de transmissão ao oxigênio e ao vapor d'água.

Embalagem	Valor	TPO ₂ * (cm ³ (CNTP)/(embal.dia)	TPVA** (g água/(embal.dia)
VS – 1º proc.	Média	-	<0,001 ²
	IV	<0,001 – 0,023	-
	CV (%)	-	-
VS – demais proc.	Média	<0,001 ¹	<0,001 ²
Pote PP	Média	0,32 ⁴	0,005 ²
	IV	0,26 – 0,38	0,004 – 0,008
	CV(%)	19,2	21,6
B. Coex Branca	Média	0,013 ¹	0,014 ²
	IV	0,007 – 0,018	0,013 – 0,015
	CV (%)	41,2	3,7
B. Coex Transparente	Média	0,038 ¹	0,014 ²
	IV	0,032 – 0,044	0,014 – 0,014
	CV (%)	15,8	-
B. PE Branca	Média	2,00 ¹	0,013 ²
	IV	1,55 – 2,74	0,013 – 0,014
	CV (%)	27,7	3,4
B. PE Transparente	Média	1,45 ¹	0,014 ²
	IV	1,10 – 1,80	0,014 – 0,014
	CV (%)	19,9	-

VS (Vidro Selado); Pote PP (Pote Polipropileno); B.Coex (Bisnaga Coextrusada); B.PE (Bisnaga Polietileno)

Valores referentes a (¹) quatro e (²) dez determinações

IV – intervalo de variação; CV – coeficiente de variação

* - valor medido a 23°C, a seco e 1atm

** - valor medido a 38°C e 90%UR

Assim, pelos resultados apresentados na Tabela 4.4, verifica-se que em termos de barreira ao oxigênio, a bisnaga Coex é a melhor opção entre as embalagens plásticas avaliadas, característica favorecida pela presença de EVOH (material barreira a gases) em sua estrutura. Em seguida, encontra-se o Pote PP e por último a bisnaga PE (blenda PEBD-PEAD), de menor barreira ao oxigênio em comparação às demais embalagens avaliadas. Entre os materiais poliolefinicos, o PP apresenta permeabilidade ao oxigênio semelhante ao PEAD, mas inferior ao PEBD, o que deve ser o principal fator para que o pote PP apresentasse melhor barreira ao oxigênio, comparativamente à bisnaga PE (JENKINS; HARRINGTON, 1991; HERNANDEZ et al., 2000a).

Entre as bisnagas Coex, a sem pigmentação (transparente) era cerca de três vezes mais permeável ao oxigênio que a pigmentada de branco devido, provavelmente, ao grade de resina da camada de EVOH utilizada, uma vez que as duas bisnagas apresentavam pequena diferença na espessura de EVOH (cerca de 1µm).

Também, visando verificar o efeito da umidificação nas características de barreira da bisnaga Coex, foi feito um pré condicionamento das bisnagas Coex transparentes a 23°C/ 100%UR por 1 mês e determinou-se um valor médio, de duas determinações, de 0,066 cm³ (CNTP)/(embalagem. dia) a 23°C, 80% UR e 1 atm (com intervalo de variação de 0,058 – 0,073 cm³ (CNTP)/(embalagem. dia)), indicando um aumento de 1,7 vezes na permeabilidade ao oxigênio, comparativamente à determinação a seco (Tabela 4.4), o que era esperado devido ao material barreira ser o EVOH, que é um polímero hidrofílico cuja barreira a gases depende da umidade. No caso do EVOH, a barreira ao oxigênio, assim como sua susceptibilidade à umidade dependem da proporção de etileno no copolímero e da cristalinidade da resina (JENKINS; HARRINGTON, 1991).

Em relação às características de barreira ao vapor d'água, o pote PP apresentou menor permeabilidade que as bisnagas, devido ao tipo de polímero e, comparativamente, maior espessura. Os dois tipos de bisnaga (Coex e PE) apresentaram barreira à umidade semelhante, uma vez que, neste caso, a barreira ao vapor d'água é definida pelo material poliolefínico da estrutura, no caso a blenda PEBD-PEAD (HERNANDEZ et al., 2000a). Também observou-se TPVA da mesma ordem de grandeza das bisnagas com e sem pigmentação (brancas e transparentes, respectivamente).

Na Figura 4.1 encontram-se apresentados os espectros de transmissão de luz dos materiais das embalagens avaliadas no estudo. Os espectros das bisnagas referem-se às bisnagas sem pigmentação (transparentes), enquanto que as bisnagas pigmentadas de branco a transmissão de luz foi nula na faixa de 200 a 800nm.

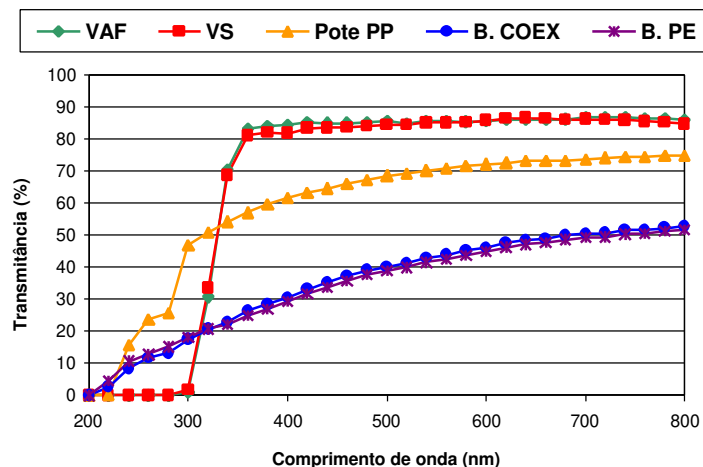


FIGURA 4.1 Espectros de transmissão de luz das embalagens analisadas.

Nas embalagens de vidro não ocorre transmissão de luz na faixa de 200 a 300nm (parte da região do ultra-violeta B), enquanto se observa uma certa transmissão nas embalagens plásticas. A partir de 300nm, contudo, a transmissão de luz no vidro aumenta, alcançando transmitância da ordem de 85% na faixa do visível, o que confere a essa embalagem uma excelente transparência, favorecendo uma melhor visualização do produto dentro da embalagem, o que muitas vezes é desejável sob o ponto de vista de *marketing*.

Comparando-se os materiais plásticos entre si, verifica-se que a porcentagem de luz transmitida no pote PP é superior à transmitida pela bisnaga, sendo esta última semelhante para os dois tipos de materiais das bisnagas plásticas, tanto na faixa do UV (200 a 380nm) como no visível (380 a 780nm).

No pote PP, a transparência é função do tipo de resina, sendo que esta resina de PP proporciona embalagens mais transparentes comparativamente a embalagens produzidas com o material PE, utilizado na fabricação das bisnagas, embora menos transparentes que os copos de vidro. Mas também interfere o processo de fabricação e velocidade de resfriamento do pote após sua fabricação e a aditivção.

Entre ambas as bisnagas avaliadas no presente estudo, não foi observada alteração da porcentagem de luz transmitida em virtude da incorporação do material barreira ao oxigênio (EVOH) na bisnaga Coex. Nas bisnagas a cristalinidade do PE é que interfere na transmissão de luz, que é função do tipo de resina, conteúdo de PEAD na blenda, velocidade de resfriamento da bisnaga após sua fabricação.

Por outro lado, com base em informações de literatura (BORLE et al., 2001; BOSSET et al., 1995), a luz de baixo comprimento de onda, na faixa do visível entre 420nm a 520nm, é que causa maior degradação em produtos de laticínios, devido à presença do fotossensibilizador riboflavina, que apresenta sua faixa de maior absorção de luz, na região do visível, em torno de 450nm. Assim, em termos de porcentagem de transmissão de luz, dentre as embalagens avaliadas, as bisnagas ofereceriam uma maior proteção ao produto (35% de transmitância a 450nm), seguido do pote PP (65% de transmitância a 450nm). As embalagens de vidro, por sua vez, não protegeriam o produto contra os efeitos indesejáveis da luz (85% de transmitância a 450nm).

Entretanto, vários outros fatores interferem nas reações de fotodegradação (BORLE et al., 2001; BOSSET et al., 1995; MORTENSEN et al., 2002c) e precisam ser avaliados conjuntamente, tais como os relacionados ao sistema de embalagem como taxa de transmissão ao oxigênio, oxigênio residual do espaço-livre, área de exposição a luz e ao oxigênio etc., o que se discute ao longo da apresentação dos resultados.

4.2 Caracterização dos produtos

4.2.1 Análises microbiológicas

A caracterização do leite cru, do leite tratado a 80°C e da massa relativos aos processamentos do requeijão cremoso quanto às contagens de microrganismos indicadores (mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais e fecais) e deteriorantes (esporogênicos aeróbios e anaeróbios e bolores e leveduras) é apresentada nas Tabelas 4.5 e 4.6, respectivamente para os Processamentos 1 e 2 e Processamentos de 3 a 5.

No leite cru utilizado nos processamentos as contagens de microrganismos psicrotróficos foram de $1,1 \times 10^3$ UFC/mL ou não puderam ser contados, enquanto que as de mesófilos variaram de $3,5 \times 10^5$ a $2,2 \times 10^6$ UFC/mL. Pelas contagens de microrganismos mesófilos determinadas nos leites crus, estes são classificados como com padrão microbiológico entre leite tipo B (contagem máxima de 5×10^5 UFC/mL) e C (sem limite de contagem) conforme a Instrução Normativa nº 51 da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (2002). Para a região sudeste, a Instrução Normativa nº 51 mantém esta classificação para o leite C até 01/07/2005, quando então passará a ser denominado de leite refrigerado (sem classificação) e deverá

apresentar contagem padrão em placas máxima de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL até 01/07/2008, quando será reduzida para $7,5 \times 10^5$ UFC/mL (BRASIL, 2002).

A contagem de microrganismos mesófilos fornece um indicativo da qualidade microbiológica global do leite cru (MORENO et al., 1999). Segundo OLIVEIRA (1986) um leite de ótima qualidade deve ter uma população bacteriana inferior a 10^5 UFC/mL, sendo insatisfatórios os que apresentam contagem superior a 10^6 UFC/mL. Para os padrões europeus, um leite obtido com boas práticas sanitárias deveria apresentar contagem de no máximo 5×10^3 UFC/mL (FOX et al., 2000a), mas essas contagens são incompatíveis com a realidade brasileira atual.

Atualmente no Brasil, o leite cru é mantido por maior tempo sob refrigeração, o que favorece o desenvolvimento de microrganismos psicrótrófos, que, embora sejam destruídos posteriormente pelo tratamento térmico, podem produzir enzimas lipolíticas e/ou proteolíticas termoresistentes, que podem por sua vez causar problemas de odor, sabor (ranço, amargor etc.) e de textura em produtos lácteos (MORENO; VIALTA, 2000). As contagens de microrganismos psicrótrófos nos leites crus utilizados nos processamentos deste estudo foram muito inferiores a 10^7 UFC/mL, que segundo MORENO; VIALTA (2000) é o nível de maior risco para que esses microrganismos produzam essas enzimas.

TABELA 4.5. Caracterização microbiológica do leite cru, do leite tratado a 80°C e da massa do 1º e 2º Processamentos de requeijão cremoso.

Microrganismo	1º Processamento			2º Processamento		
	Leite cru*	Leite tratado a 80°C*	Massa de requeijão**	Leite cru*	Leite tratado a 80°C*	Massa de requeijão**
Microrganismos mesófilos (UFC)	$1,1 \times 10^6$	$1,4 \times 10^4$	$1,4 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$1,4 \times 10^2$	$3,0 \times 10^4$
Microrganismos psicotróficos (UFC)	-	$9,2 \times 10^2$	$> 3,0 \times 10^5$	$> 3,0 \times 10^2$	$1,2 \times 10^1$	$> 3,0 \times 10^5$
Coliformes totais (NMP)	$\geq 2,4 \times 10^3$	4,0	$\geq 2,4 \times 10^3$	$\geq 2,4 \times 10^3$	$2,3 \times 10^1$	$2,3 \times 10^1$
Coliformes fecais (NMP)	$< 0,3$	$< 0,3$	< 3	4,0	$< 0,3$	< 3
Esporos aeróbios mesófilos (UFC)	-	$2,8 \times 10$	$1,1 \times 10^2$	$1,8 \times 10^2$	$3,4 \times 10^1$	< 10
Esporos aeróbios psicotróficos (UFC)	-	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP)	-	$< 0,3$	< 3	$\geq 2,4 \times 10^3$	$2,3 \times 10^1$	$2,4 \times 10^2$
Esporos anaeróbios psicotróficos (NMP)	-	$< 0,3$	< 3	$< 0,3$	$< 0,3$	< 3
Bolores e leveduras (UFC)	-	< 10	$9,1 \times 10^3$	$1,4 \times 10^2$	< 10	$6,2 \times 10^2$

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

-: não realizada

*Contagens por mililitro (mL^{-1})

**Contagens por grama (g^{-1})

TABELA 4.6 Caracterização microbiológica do leite cru, do leite tratado a 80°C e da massa do 3º ao 5º Processamentos de requeijão cremoso.

Microrganismo	3º Processamento			4º Processamento			5º Processamento		
	Leite cru*	Leite tratado a 80°C*	Massa de requeijão**	Leite cru*	Leite tratado a 80°C*	Massa de requeijão**	Leite cru*	Leite tratado a 80°C*	Massa de requeijão**
Microrganismos mesófilos (UFC)	$1,9 \times 10^6$	$1,2 \times 10^1$	$7,0 \times 10^4$	$1,2 \times 10^6$	$7,0 \times 10^4$	$6,4 \times 10^3$	$2,2 \times 10^6$	$2,8 \times 10^1$	$7,0 \times 10^3$
Microrganismos psicrotróficos (UFC)	$>3,0 \times 10^2$	< 10	$2,8 \times 10^4$	$1,0 \times 10^3$	< 10	< 10	$1,1 \times 10^3$	< 10	$9,7 \times 10^3$
Coliformes totais (NMP)	$\geq 2,4 \times 10^3$	$< 0,3$	$\geq 2,4 \times 10^3$	110	$< 0,3$	110	$\geq 2,4 \times 10^2$	$< 0,3$	2,3
Coliformes fecais (NMP)	21	$< 0,3$	< 3	$< 0,3$	$< 0,3$	< 3	110	$< 0,3$	< 3
Esporos aeróbios mesófilos (UFC)	< 10	< 10	< 10	$1,0 \times 10^1$	$1,4 \times 10^1$	$6,5 \times 10^1$	$3,9 \times 10^2$	$3,1 \times 10^2$	< 10
Esporos aeróbios psicrotróficos (UFC)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	$5,0 \times 10^1$	< 10	< 10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP)	$1,2 \times 10^2$	$< 0,3$	9,0	$< 0,3$	$< 0,3$	< 3	0,4	$< 0,3$	< 3
Esporos anaeróbios psicrotróficos (NMP)	$< 0,3$	$< 0,3$	< 3	$< 0,3$	$< 0,3$	< 3	$< 0,3$	$< 0,3$	< 3
Bolores e leveduras (UFC)	$1,2 \times 10^3$	< 10	$3,1 \times 10^3$	$2,0 \times 10^2$	$1,6 \times 10^1$	< 10	$5,8 \times 10^2$	< 10	$2,2 \times 10^3$

*Contagens em mililitro (mL^{-1})

**Contagens em grama (g^{-1})

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

Foi verificada a presença de coliformes totais ($\geq 2,4 \times 10^3$ NMP/mL) no leite cru dos três primeiros processamentos, bem como quantificados coliformes fecais no leite cru utilizado no 2º, 3º e 5º Processamentos, indicando práticas higiênico-sanitárias não adequadas durante a obtenção, transporte e estocagem do leite cru. As contagens de bolores e leveduras no leite cru foram inferiores a $1,2 \times 10^3$ UFC/mL.

Ainda nos leites crus, entre os microrganismos deteriorantes de importância para requeijão, constatou-se a presença de esporogênicos anaeróbios mesófilos no 2º ($\geq 2,4 \times 10^3$ NMP/mL) e no 3º Processamento ($1,2 \times 10^2$ NMP/mL). A presença de esporulados anaeróbios mesófilos no leite cru para requeijão requer monitoramento porque o gênero mais comum é o *Clostridium*, que é o principal causador de defeitos microbiológicos em queijos fundidos. Os esporos desses microrganismos resistem ao tratamento térmico a que normalmente os queijos fundidos são submetidos e podem causar defeitos como produção de gás (CO_2 , H_2 , H_2S) com ou sem alteração de odor, proteólise seguida de dessora e produção de toxinas, dependendo da espécie envolvida (RAPACCI; VAN DENDER, 1997).

Também foi constatada a presença de bactérias esporogênicas aeróbias mesófilas no leite cru do 2º, 4º e 5º Processamentos (contagens de $1,1 \times 10^1$ a $3,9 \times 10^2$ UFC/mL) e aeróbios psicrotróficos no 5º processamento ($5,0 \times 10^1$ UFC/mL). Nestas categorias encontram-se os *Bacillus*, que são aeróbios ou anaeróbios facultativos e podem ser psicrotróficos, mesófilos e termófilos. Dependendo da espécie, produzem enzimas que causam alterações no produto como desenvolvimento de sabor estranho, amargor e também há espécies patogênicas, como o *B. cereus*, que causam gastroenterites (MORENO; VIALTA, 2000).

Após o aquecimento do leite à 80°C, efetuado para a precipitação ácida a quente das proteínas, constataram-se reduções superiores a 98,7% de microrganismos mesófilos nos processamentos (exceto no 4º Processamento que foi de 94%), bem como reduções de contagens dos demais microrganismos pesquisados, indicando a eficiência do tratamento térmico utilizado. As contagens de mesófilos foram inferiores a $8,0 \times 10^4$ UFC/mL, que será o limite para mesófilos em leite pasteurizado tipo B em 2005 (região sudeste), segundo a Instrução Normativa nº 51 (BRASIL, 2002).

Após a dessora, enformagem e prensagem verificou-se aumento das contagens de microrganismos da massa e presença de bolores e leveduras, em virtude da excessiva

manipulação, necessária nesta etapa do processamento do requeijão cremoso. A ausência de coliformes fecais na massa de requeijão produzida em todos os processamentos comprova as boas práticas higiênico-sanitárias utilizadas.

Logo após o processo de fusão da massa e seu acondicionamento a quente nos diversos tipos de embalagens, nos cinco processamentos, a qualidade microbiológica dos requeijões também foi avaliada por meio da contagem de microrganismos indicadores e deteriorantes e os resultados obtidos são apresentados nas Tabelas 4.7 e 4.8, respectivamente, para os Processamentos 1 e 2 e Processamentos de 3 a 5.

As contagens observadas nos requeijões acondicionados nas diversas embalagens, nos cinco processamentos, indicam que o processo de fusão levou a uma redução do número dos diferentes grupos de microrganismos examinados, em todas as embalagens.

A detecção de mesófilos foi esporádica, com contagens máximas de $1,1 \times 10^3$ UFC/g e, quando observada com maior frequência como nos requeijões das diversas embalagens do 4º Processamento, foram contagens da ordem de 10^1 UFC/g, níveis esses também observados por SILVA (2003) e que não causaram alterações em requeijão tradicional fabricado por processo semelhante.

A detecção de psicrotróficos ocorreu com maior frequência nos produtos do 2º Processamento (contagem máxima de $1,6 \times 10^2$ UFC/g), enquanto contagens esporádicas e no máximo de $2,0 \times 10^1$ UFC/g de bolores e leveduras foram observadas nos produtos do 2º e 5º Processamentos.

Entre os microrganismos esporulados, foram observadas contagens de no máximo $8,6 \times 10^2$ UFC/g de aeróbios mesófilos nos produtos do 4 e 5º Processamentos, que não devem ter causado problemas nos produtos, uma vez que não eram linhagens psicrotróficas, diminuindo, assim, as chances de deterioração do produto estocado à 10°C.

Todos esses microrganismos foram monitorados durante a estocagem e os dados obtidos são avaliados de maneira global na sequência de apresentação dos resultados deste trabalho. Esses dados são importantes para complementar a literatura técnica disponível sobre a estabilidade microbiológica de requeijão cremoso, pobre em pesquisas que envolvam análises microbiológicas e sua correlação com problemas de qualidade do produto.

TABELA 4.7 Caracterização microbiológica do requeijão cremoso logo após o acondicionamento do produto nas embalagens – 1º e 2º Processamentos.

Microrganismo	1º Processamento				2º Processamento					
	VAF	VS	Pote PP	B.COEX	B.PE	VAF	VS	Pote PP	B.COEX	B.PE
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	5,8x10 ²	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Microrganismos psicrotróficos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	7x10 ¹	5,0x10 ¹	<10	<10	1,6x10 ²
Coliformes totais (NMP/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Coliformes fecais (NMP/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Esporos aeróbios psicrotróficos (UFC/g)	-	-	-	-	-	<10	<10	<10	<10	<10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Esporos anaeróbios psicrotróficos (NMP/g)	-	-	-	-	-	<3	<3	<3	<3	<3
Bolores e leveduras (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	2x10 ¹	<10	<10	<10	<10

VAF (Vidro Abre Fácil); VS (Vidro Selado); ; Pote PP (Pote Polipropileno); B.Coex (Bisnaga Coextrusada); B.PE (Bisnaga Polietileno)

UFC: unidades formadoras de colônias

NMP: número mais provável

- não realizado

TABELA 4.8 Caracterização microbiológica do requeijão cremoso logo após o acondicionamento do produto nas embalagens – 3º ao 5º Processamentos.

Microrganismo	3º Processamento					4º Processamento					5º Processamento		
	VAF	VS	Pote PP	B.COEX	B.PE	VAF	VS	Pote PP	B.COEX	B.PE	VAF	Pote PP	B.COEX
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	1,1x10 ³	<10	<10	<10	<10	1,0x10 ¹	3,0x10 ¹	<10	2,0x10 ¹	7,5x10 ¹	<10	<10	<10
Microrganismos psicrotróficos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	2,0x10 ¹	<10
Coliformes totais (NMP/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Coliformes fecais (NMP/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	7,0x10 ¹	2,0x10 ¹	8,6x10 ²	1,0x10 ¹	1,2x10 ²	2,0x10 ¹	<10	<10
Esporos aeróbios psicrotróficos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Esporos anaeróbios psicrotróficos (NMP/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Bolores e leveduras (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	1,0x10 ¹	<10

VAF (Vidro Abre Fácil); VS (Vidro Selado); Pote PP (Pote Polipropileno); B.Coex (Bisnaga Coextrusada); B.PE (Bisnaga Polietileno)

UFC: unidades formadoras de colônias

NMP: número mais provável

4.2.2 Análises físico-químicas

Os resultados de caracterização físico-química dos produtos, logo após o processamento e acondicionamento nas embalagens estudadas, são apresentados nas Tabelas 4.9 e 4.10, respectivamente, para os requeijões dos Processamentos 1 e 2 e Processamentos de 3 a 5.

De modo geral, verificaram-se iguais características físico-químicas nos produtos nas diversas embalagens para cada processamento. Em cada processamento, foram feitos de 13 a 15 processos de fusão de forma a se ter a quantidade necessária de produto para acondicionamento nas diferentes embalagens. Para minimizar diferenças, todos os lotes constavam de cerca de 10kg de massa básica formulados com a mesma quantidade de creme, sais e água para se obter requeijão cremoso com a mesma composição. Além disso, o tempo de processo foi cronometrado para que a mistura fosse submetida aos mesmos tratamentos mecânico e térmico. Desta forma, procurou-se monitorar indiretamente a quantidade de condensado que era incorporada à mistura juntamente com o vapor direto utilizado para aquecer a mesma.

Assim, os requeijões cremosos produzidos nos cinco processamentos apresentavam a seguinte composição: pH entre 5,65 a 5,96; 0,49 a 0,67% de ácido láctico; 33,2 a 36,9% de EST; 55,8 a 65,7% de GES; 0,37 a 0,78% de NaCl e atividade de água de 0,99. (Tabelas 4.9 e 4.10)

O pH dos requeijões estava dentro da faixa quantificada em nove marcas comerciais de requeijões que era de 4,85 a 6,28 avaliados por RABÊLO et al. (2002), mas inferior ao quantificado em requeijão produzido por acidificação direta a quente em seis processos distintos feitos por RAPACCI e VAN DENDER (1998) (pH de 5,92 a 6,35) e SILVA (2003) (pH de 6,10 a 6,20). Segundo SANTOS (2002) a faixa ideal de pH para requeijão cremoso é de 5,70 a 5,90.

Valores de pH em requeijão estão relacionados com vida útil devido à sua influência na estabilidade microbológica, além de afetar as características reológicas e sensoriais do produto final (BERGER et al., 1997a; TUNICK;NOLAN, 1992 citado por RAPACCI; VAN DENDER, 1998).

Segundo TUNICK e NOLAN, 1992 (citado por RAPACCI; VAN DENDER, 1998) o pH influencia a textura dos queijos processados, uma vez que afeta a configuração das proteínas. Valores de pH abaixo de 5,4 resultam em queijo processado de textura muito firme e granulosa, enquanto queijos com pH na faixa de 5,5 a 5,7 têm consistência cremosa e firme. Já valores de pH acima de 6,3 resultam em queijos processados de consistência pastosa.

RABELO et al. (2002) avaliaram nove marcas de requeijão comercializadas em Goiânia e constataram atividade de água entre 0,979 e 0,986.

De maneira geral, os requeijões produzidos neste estudo apresentaram composição centesimal semelhante às aquelas encontradas na literatura para produto similar, ou seja, requeijão cremoso fabricado a partir de massa básica obtida por precipitação ácida a quente (RAPACCI, 1997; SILVA, 2003).

Com relação ao padrão de qualidade e identidade de requeijão cremoso (BRASIL, 1998) verifica-se que os resultados de gordura no extrato seco atenderam ao limite mínimo de 55% em todos os processamentos. Entretanto, a porcentagem de extrato seco total se encontrou abaixo do mínimo de 35% nos produtos do 1º e 4º Processamentos, uma vez que a umidade máxima especificada é de 65%.

TABELA 4.9 Caracterização físico-química do requeijão cremoso logo após o acondicionamento do produto nas embalagens – 1º e 2º Processamentos.

Análises	1º Processamento					2º Processamento				
	VAF	VS	Pote PP	B.COEX	B.PE	VAF	VS	Pote PP	B.COEX	B.PE
PH ¹	5,93	5,96	5,95	5,90	5,95	5,85	5,85	5,84	5,82	5,82
Acidez (%) ¹	0,67	0,64	0,64	0,59	0,64	0,54	0,54	0,54	0,50	0,50
EST (%) ²	33,60	34,04	33,90	33,67	34,64	35,99	35,62	35,41	35,54	35,13
Gordura (%) ¹	20,82	21,79	21,02	20,82	21,77	21,68	22,76	20,89	22,29	21,98
GES (%) ¹	61,96	64,01	62,00	61,83	62,85	60,24	65,68	58,99	62,72	62,57
PT (%) ¹	10,89	10,85	10,89	10,99	11,00	10,93	10,17	10,50	10,53	10,45
NS (%) ¹	0,06	0,04	0,07	0,07	0,06	0,09	0,09	0,09	0,10	0,08
NNP (%) ¹	0,05	0,07	0,07	0,03	0,08	0,04	0,03	0,04	0,04	0,03
Lactose (%) ²	1,18	1,11	1,18	1,18	0,99	0,93	0,88	0,92	0,92	0,90
NaCl (%) ¹	0,37	0,40	0,41	0,43	0,38	0,72	0,71	0,70	0,72	0,68
Cinzas (%) ³	1,65	1,66	1,64	1,57	1,63	2,01	1,97	1,95	1,95	1,93
Cálcio (mg/100g) ²	-	-	-	-	-	212,30	201,35	208,26	204,97	206,47
Magnésio (mg/100g) ²	-	-	-	-	-	9,58	9,34	9,42	9,43	9,19
Fósforo (mg/100g) ²	-	-	-	-	-	397,52	408,14	419,37	403,15	365,92
Aa ³	0,991	0,992	0,991	0,992	0,991	0,992	0,991	0,990	0,990	0,991

Médias referentes a (1) dois, (2) três ou (3) quatro repetições.

VAF (Vidro Abre Fácil); VS (vidro Selado); Pote PP (Pote Polipropileno); B.Coex (Bisnaga Coextrusada); B.PE (Bisnaga Polietileno) não realizado

EST (extrato seco total); GES (gordura no extrato seco); PT (proteína total); Ns (nitrogênio solúvel); NNP (nitrogênio não protéico);

Aa (atividade de água).

TABELA 4.10 Caracterização físico-química do requeijão cremoso logo após o acondicionamento do produto nas embalagens– 3º ao 5º Processamentos.

Análises	3º Processamento					4º Processamento					5º Processamento		
	VAF	VS	Pote PP	B.COEX	B.PE	VAF	VS	Pote PP	B.COEX	B.PE	VAF	Pote PP	B.COEX
pH ¹	5,90	5,94	5,92	5,88	5,94	5,65	5,66	5,67	5,66	5,66	5,78	5,80	5,77
Acidez (%) ¹	0,51	0,49	0,51	0,49	0,49	0,53	0,58	0,58	0,63	0,61	0,62	0,61	0,59
EST (%) ²	36,52	36,40	36,13	36,85	37,24	33,71	33,22	33,77	33,79	33,39	35,44	34,91	35,32
Gordura (%) ¹	22,86	22,84	22,14	22,82	22,00	19,27	19,20	18,85	18,90	18,70	21,40	20,20	21,54
GES (%) ¹	62,60	62,75	61,28	61,93	59,08	57,16	57,80	55,82	55,93	56,00	60,38	57,86	60,99
PT (%) ¹	10,56	10,41	11,23	10,59	11,64	10,64	10,10	10,31	9,85	10,47	12,27	10,71	11,70
NS (%) ¹	0,09	0,09	0,08	0,08	0,08	0,08	0,06	0,10	0,08	0,09	0,10	0,08	0,09
NNP (%) ¹	0,07	0,07	0,07	0,07	0,09	0,06	0,05	0,08	0,05	0,09	0,05	0,05	0,07
Lactose (%) ²	1,08	1,06	1,05	1,08	1,07	0,70	0,70	0,70	0,72	0,71	1,01	0,95	0,98
NaCl (%) ¹	0,75	0,76	0,77	0,78	0,75	0,59	0,61	0,59	0,58	0,60	0,66	0,68	0,64
Cinzas (%) ³	1,97	1,98	1,99	2,04	1,96	1,53	1,67	1,66	1,57	1,71	1,46	1,50	1,54
Cálcio (mg/100g) ²	183,95	200,30	188,34	208,37	197,20	199,36	197,61	200,43	190,36	192,24	244,26	188,44	227,14
Magnésio (mg/100g) ²	8,45	8,51	8,48	9,08	8,58	8,46	8,46	8,41	7,84	8,02	9,36	8,12	8,66
Fósforo (mg/100g) ²	445,07	375,34	363,29	391,82	389,87	687,45	694,22	690,11	668,49	673,27	357,10	312,84	344,45
Aa ³	0,988	0,989	0,988	0,989	0,990	0,990	0,990	0,990	0,990	0,989	0,989	0,989	0,988

Médias referentes a (1) dois, (2) três ou (3) quatro repetições.

VAF (Vidro Abre Fácil); VS (Vidro Selado); Pote PP (Pote Polipropileno); B.Coex (Bisnaga Coextrusada); B.PE (Bisnaga Polietileno)

EST (extrato seco total); GES (gordura no extrato seco); PT (proteína total); Ns (nitrogênio solúvel); NNP (nitrogênio não protéico);

Aa (atividade de água).

4.3 Estudo da estabilidade do produto no escuro

4.3.1 Avaliações periódicas das embalagens

Peso líquido e vácuo

Na Tabela 4.11 são apresentados os resultados de determinação do peso líquido médio de requeijão cremoso por tipo de embalagem avaliado no 1º e no 2º Processamentos, em ausência de luz.

O enchimento manual das embalagens de requeijão cremoso no 1º Processamento levou a uma grande variação no peso líquido de produto por embalagem (coeficientes de variação entre 4 e 12%). De maneira geral, o copo de VAF e o pote de PP apresentavam maior capacidade volumétrica e acondicionavam 250g de requeijão enquanto o copo de vidro selado e as bisnagas continham ao redor de 180g e 185g de requeijão cremoso, respectivamente.

No 2º processamento, embora o enchimento das embalagens ainda tenha sido manual, tentou-se padronizar o peso de enchimento, reduzindo o coeficiente de variação para 2 a 3%. Neste processamento, o copo de VAF e o pote de PP acondicionaram cerca de 250g de requeijão cremoso e o copo de VS (com novas dimensões) e bisnagas plásticas, ao redor de 180g.

As variações na quantidade de produto acondicionado nas embalagens e na temperatura do produto no enchimento levaram a variações no volume de gases do espaço-livre das embalagens, o que só poderia ter sido minimizado com a automatização do enchimento (uso de enchedeiras, controle de peso líquido, processo contínuo para permitir controle de temperatura etc.), o que não se dispunha na planta de processamento.

TABELA 4.11 Peso líquido de requeijão nas embalagens do 1º e 2º Processamentos.

Processamento /		Embalagem									
Resultados		VAF		VS		Pote PP		B. Coex		B.PE	
		10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C
1º	M (g)	260,3	255,9	179,4	176,9	251,2	255,0	184,0	185,8	183,7	186,1
	IV (g)	236,8- 288,0	224,9- 281,0	138,9- 190,0	157,9- 190,5	228,8- 282,86	226,0- 285,1	168,8- 205,4	171,1- 201,5	173,7- 197,8	171,8- 201,0
	CV (%)	5,0	5,6	11,8	4,2	9,7	5,0	3,7	4,6	3,6	4,9
2º	M (g)	254,0	253,3	181,6	181,4	261,0	257,5	179,0	179,7	179,5	180,3
	IV (g)	241,6- 267,3	239,5- 266,2	171,7- 191,4	171,4- 191,3	245,0-283,4	244,7- 284,0	166,0- 194,0	168,9- 192,1	172,2- 197,6	168,9- 194,4
	CV (%)	2,4	2,6	2,4	2,7	3,2	3,3	2,5	2,7	2,8	3,4

Valores referentes a trinta e seis e sessenta determinações para o 1º e 2º Processamento, respectivamente

M – Média; IV - Intervalo de variação; CV - Coeficiente de variação

VAF(Vidro Abre Fácil); VS (Vidro Selado); Pote PP (Pote Polipropileno); B.Coex (Bisnaga Coextrusada); B.PE (Bisnaga Polietileno)

Os níveis de vácuo dos copos de vidro fechados com folha-de-flandres (VAF) são apresentados na Tabela 4.12. Ao longo da estocagem na ausência de luz, não houve tendência de perda de vácuo e foram quantificados valores individuais variando entre 16,5 e 18,5pol Hg. O fabricante da tampa recomenda vácuo médio entre 18 e 20pol Hg, alertando que abaixo de 16polHg existe risco de não fixação da tampa no copo e de comprometimento da hermeticidade e que vácuo acima de 20polHg pode causar formação de bolhas no produto.

TABELA 4.12 Vácuo nos copos VAF ao longo da estocagem na ausência de luz do 1º e 2º Processamentos.

Processamento	Resultados	Vácuo (pol Hg)	
		10°C	4°C
1º	M	17,5	17,0
	IV	16,5 – 18,5	16,5 – 18,0
	CV (%)	4,6	3,5
2º	M	17,0	17,0
	IV	16,5 – 17,5	17,0 – 17,5
	CV (%)	1,6	1,5

Valores referentes a vinte e uma e trinta determinações, respectivamente no 1º e 2º Processamentos

M – Média, IV - Intervalo de variação; CV – Coeficiente de variação

VAF (Vidro Abre Fácil)

Fator de conversão para Sistema Internacional: 1pol Hg = 3,386 x 10³Pa

Vale ressaltar que nas demais embalagens rígidas (copo de vidro selado e pote de PP), devido ao enchimento a quente do produto, há certa formação de vácuo, que em parte foi compensada pelo abaulamento do selo de alumínio. Nas bisnagas, devido à sua flexibilidade, a formação de vácuo é quebrada com o colapso das paredes da embalagem.

Volume e Composição Gasosa do espaço-livre

Na Figura 4.2 são apresentados os resultados de volume de gases do espaço-livre das embalagens de requeijão ao longo da estocagem na ausência de luz.

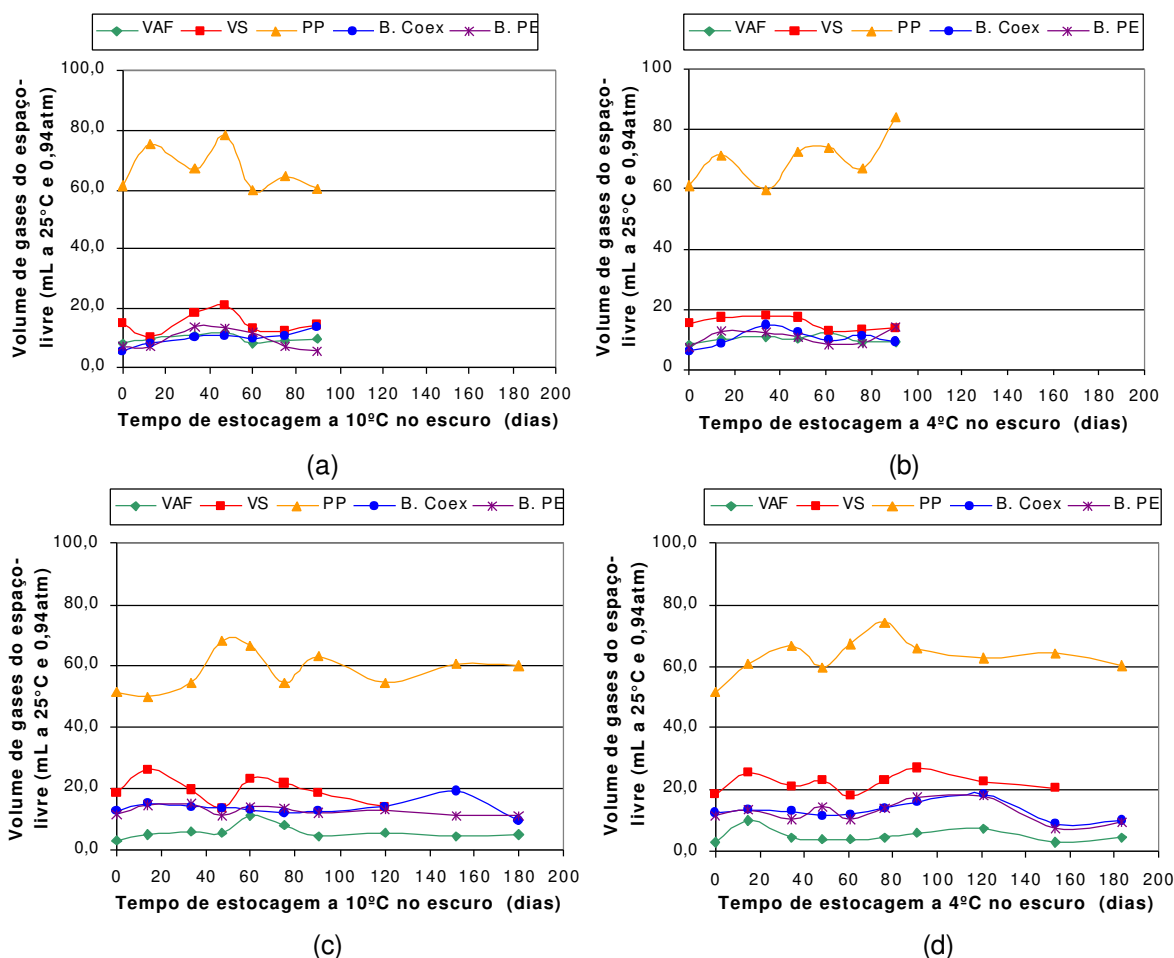


FIGURA 4.2 Volume do espaço-livre das embalagens de requeijão cremoso ao longo da estocagem à (a) 10°C e (b) 4°C – 1º Processamento e (c) 10°C e (d) 4°C – 2º Processamento.

O volume de gases do espaço-livre de cada tipo de embalagem do 1º Processamento variou muito devido às oscilações ocorridas nas condições de enchimento (quantidade e temperatura do produto).

No 2º Processamento, o volume de gases no espaço-livre das embalagens ainda variou, embora um pouco menos do que no 1º Processamento, porque foi monitorado o peso líquido de produto no enchimento.

Apesar dos dois copos de vidro, abre-fácil e selado, apresentarem o mesmo diâmetro de terminação e do cuidado em manter o nível de espaço-livre similar em ambos os copos, os volumes de gases do espaço-livre foram bastante diferentes, observando-se valores médios de 10,0mL no vidro abre-fácil e 15,2mL no vidro selado do 1º

Processamento e no 2º Processamento de 5,6mL no copo de VAF e 21,2mL no copo de VS. Esta diferença é justificada pela injeção de vapor no copo de VAF antes do fechamento, levando a uma diminuição do volume de gases do espaço-livre.

O volume médio do espaço-livre do copo de VAF do 2º Processamento (capacidade volumétrica de 275mL) ficou menor do que do 1º Processamento (capacidade volumétrica de 288mL) provavelmente porque se manteve a quantidade de produto acondicionado embora a capacidade volumétrica fosse em média 13mL menor (Tabela 4.1).

O volume médio do espaço-livre do copo de VS do 2º Processamento (21,2mL) foi maior do que do 1º Processamento (15,2mL) embora a quantidade de produto acondicionado tenha sido mantida (cerca de 180g) e as capacidades volumétricas fossem semelhantes (208 e 210mL, respectivamente, Tabela 4.1), provavelmente por variações na temperatura de enchimento.

As duas bisnagas eram as embalagens de menor diâmetro entre as estudadas e tiveram suas extremidades comprimidas antes do fechamento para a termossoldagem do fundo, fatores que determinaram o seu pequeno volume de espaço-livre.

Nas duas bisnagas reduziu-se um pouco a quantidade de produto do 1º Processamento (185g) para o 2º Processamento (180g) o que pode ter levado ao pequeno aumento do volume de espaço-livre (média de 10mL no 1º Processamento para 13mL no 2º Processamento).

Os potes de PP, devido ao maior diâmetro dentre os cinco tipos de embalagem, mantiveram-se com maior volume do espaço-livre em ambos os processos (médias de 68mL no 1º Processamento e 62mL no 2º Processamento).

A importância do volume de gases do espaço-livre se deve à presença de oxigênio, que pode ser utilizado em reações de oxidação da gordura, no caso do requeijão cremoso.

Desta forma, a partir do volume médio de gases do espaço-livre, quantificado em cada tipo de embalagem e, considerando que inicialmente este volume continha 21% de oxigênio, pode-se calcular a disponibilidade de oxigênio nas embalagens, bem como a quantidade de oxigênio por quantidade de produto acondicionado (Tabela 4.13).

TABELA 4.13 Quantidade de oxigênio no espaço-livre das embalagens ao longo da estocagem na ausência de luz.

Embalagem	Processamento	Volume médio de gases do espaço-livre (mL*)	Volume médio de oxigênio do espaço-livre (mL*)	Peso líquido (g)	ML* de O ₂ / g de produto
VAF	1º	10,0	2,1	258	0,008
	2º	5,6	1,2	254	0,005
VS	1º	15,2	3,2	178	0,018
	2º	21,2	4,4	182	0,024
Pote PP	1º	68,5	14,4	253	0,057
	2º	61,8	13,0	260	0,050
B. Coex	1º	10,1	2,1	185	0,014
B. PE	2º	13,4	2,8	180	0,016

* mL a 25°C e 0,94atm

Desta forma, a quantidade de oxigênio disponível no espaço-livre do pote de PP por quantidade de produto acondicionado se destacava em relação às demais embalagens (média de 0,054mL/g), além da maior superfície de contato produto/oxigênio devido ao maior diâmetro do pote. A menor relação foi observada no copo VAF (média de 0,006mL/g), sendo que nas demais embalagens estas relações eram intermediárias (médias de 0,015mL/g nas bisnagas e 0,021mL/g no VS).

Os teores de oxigênio no espaço-livre das embalagens de requeijão cremoso do 1º Processamento e 2º Processamento, ao longo da estocagem a 10°C e 4°C são apresentados na Figura 4.3.

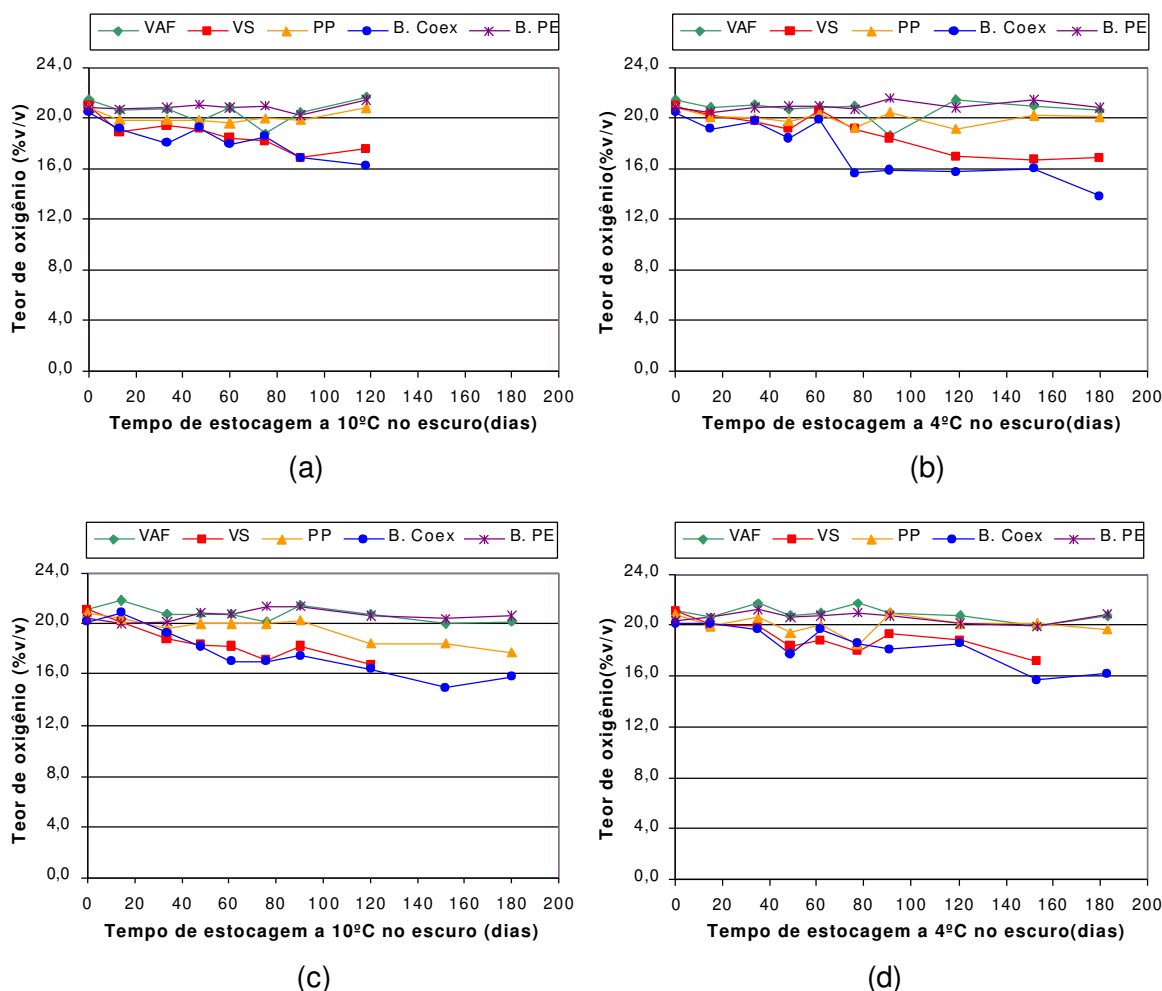


FIGURA 4.3 Teor de oxigênio no espaço-livre das embalagens de requeijão cremoso ao longo da estocagem à (a) 10°C e (b) 4°C – 1º Processamento e (c) 10°C e (d) 4°C – 2º Processamento.

Inicialmente, a concentração de oxigênio no espaço-livre das embalagem era ao redor de 21%, que é o teor de oxigênio do ar atmosférico. Entretanto, ao longo das estocagens do 1º e 2º Processamento verificou-se que as concentrações de oxigênio diferiram dependendo do tipo de embalagem utilizado ($p < 0,05$ para a interação tipo de embalagem/tempo de estocagem).

Ao longo da estocagem em ausência de luz, a concentração inicial de oxigênio (21%) foi praticamente mantida no copo de VAF e na bisnaga PE.

No caso da bisnaga de PE, apesar do menor volume de gases do espaço-livre o teor de oxigênio não diminuiu provavelmente pelo fato desta embalagem apresentar maior taxa de transmissão ao oxigênio (Tabela 4.4). Neste caso, se o oxigênio for consumido

em reações de oxidação ou solubilizado no produto, este é repostado por permeação pelas paredes da embalagem ao longo da estocagem.

No copo VAF não houve tendência de diminuição da concentração de oxigênio do espaço-livre ao longo da estocagem ou seja, menor consumo de oxigênio pelo produto. Nesta embalagem, há formação de vácuo devido ao enchimento a quente do produto e à injeção de vapor no processo do fechamento da embalagem (ao redor de 17polHg, conforme apresentado na Tabela 4.12), o que leva a uma menor pressão parcial de oxigênio no espaço-livre e, conseqüentemente, a uma menor solubilização deste gás no produto. Isto porque a concentração de oxigênio dissolvido no produto é diretamente proporcional à pressão parcial de oxigênio, conforme a Lei de Henry (HERNANDEZ et al., 2000b).

$$C_{O_2} = S \cdot p_{O_2}$$

onde:

C_{O_2} = concentração de oxigênio dissolvido no produto;

S = coeficiente de solubilidade que depende da composição do produto e da temperatura, etc.

P_{O_2} = pressão parcial de oxigênio no espaço-livre da embalagem

Nos potes de PP estocados à 4°C também foi mantido o teor de oxigênio residual inicial, ao passo que nos potes de PP mantidos a 10°C observou-se uma pequena diminuição na concentração de oxigênio após 120 dias de estocagem no 2º Processamento (redução de 21% para 18%, em média). Devido a maior quantidade de oxigênio disponível no espaço-livre do pote de PP (Figura 4.2), é provável que a solubilização do oxigênio no produto e/ou o seu consumo em reações de oxidação, se pequenos, não causem em diminuição deste gás em termos percentuais. Também pode ter influenciado o fato desta ser a segunda embalagem mais permeável ao oxigênio dentre as embalagens estudadas (Tabela 4.4).

Ao longo da estocagem avaliados em ausência de luz, verificou-se tendência de diminuição da concentração de oxigênio do espaço-livre no copo de VS e na bisnaga Coex.

No copo de VS observou-se uma redução média de oxigênio de 21% para 17%, embora a área superficial de produto em contato com os gases do espaço-livre fosse a mesma do copo de vidro abre-fácil em cada processamento (ϕ = 74mm no 1º Processamento e ϕ =67mm no 2º Processamento). No entanto, é esperado que o vácuo no copo VS seja menor porque não houve injeção de vapor como no copo VAF e o

abaulamento do selo de alumínio compensa parte do vácuo formado com o enchimento a quente do produto, conforme já discutido anteriormente. Desta forma, é provável que este menor teor de vácuo faça com que a pressão parcial de oxigênio no espaço-livre seja maior, levando a maior solubilização deste gás no produto, conforme explicado pela Lei de Henry descrita anteriormente.

Na bisnaga Coex a redução do teor de oxigênio no espaço-livre observada foi em média de 21% para 14%. Nesta embalagem, o pouco oxigênio que provavelmente foi consumido em reações de oxidação e/ou solubilizado no produto não é repostado pela entrada de oxigênio por permeação através do material de embalagem devido às suas boas características de barreira ao oxigênio (Tabela 4.4).

Embora tenha sido avaliado, não se quantificou gás carbônico no espaço-livre das embalagens durante o período em estudo.

Os teores de N_2 oscilaram nas embalagens contrabalançando as oscilações nas porcentagens de oxigênio ao longo da estocagem (variações de 78 a 80% no VAF e B. PE; 79 a 82% no Pote de PP; 79 a 83% no copo VS e 79 a 85% na B. Coex).

Não foram localizados na literatura trabalhos realizados para requeijão cremoso ou outros tipos de queijos processados onde aspectos relacionados com volume e composição gasosa do espaço-livre tenham sido avaliados, de forma a permitir comparações com os resultados obtidos. Na literatura internacional, alguns estudos com queijos processados têm sido feitos para produtos comercializados na Índia e no Egito. Nestes casos, além dos produtos apresentarem características distintas do requeijão cremoso em relação à estabilidade microbiológica que permite estocagens a temperatura ambiente, também não foram realizadas avaliações relacionadas à embalagem (GOYAL; BABU, 1991; EL-SHIBINY et al., 1996).

Uma vez que, quando foram avaliados o volume e o teor de oxigênio do espaço-livre das embalagens, calculou-se o volume de oxigênio (mL a 25°C e 0,94atm) presente no espaço-livre das embalagens ao longo da estocagem do 2º Processamento, o qual foi monitorado por mais tempo.

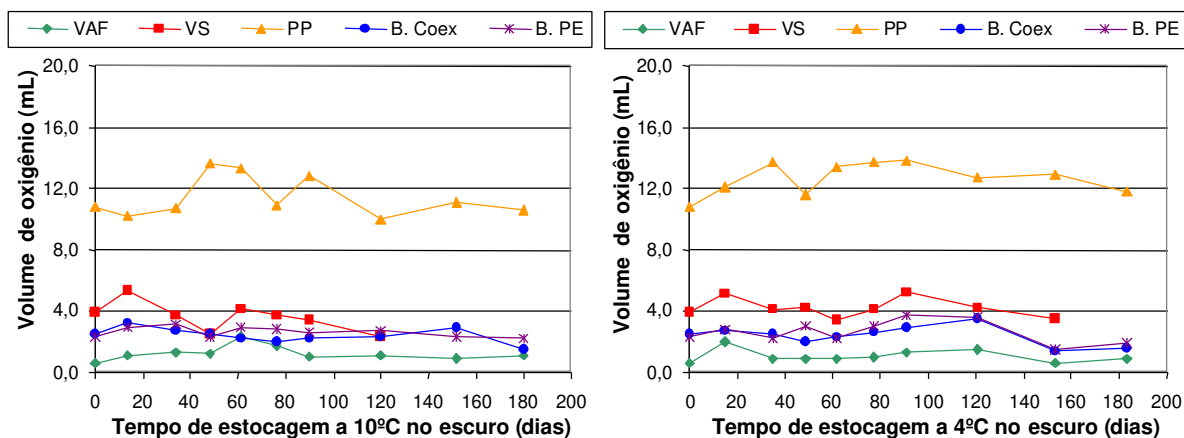


FIGURA 4.4 Volume de oxigênio (mL a 25°C e 0,94atm) no espaço-livre das embalagens de requeijão cremoso ao longo da estocagem à (a) 10°C e (b) 4°C – 2º Processamento.

Verificou-se pelos resultados apresentados na Figura 4.4 que não houve tendência de redução do volume de oxigênio do espaço-livre em todas as embalagens avaliadas, ao longo das duas condições de estocagem e evidenciou-se que o volume de oxigênio disponível no espaço-livre do pote de PP se destacava em relação às demais embalagens, conforme comentado anteriormente.

4.3.2. Análises periódicas do produto

Análises microbiológicas

Os resultados das contagens de microrganismos indicadores (mesófilos e psicrotróficos) e deteriorantes (esporogênicos aeróbios e anaeróbios e bolores e leveduras) durante a estocagem a 4 e 10°C das amostras de requeijão acondicionado nos cinco tipos de embalagens dos Processamentos 1 e 2 são apresentados nos Anexos 1 a 10. Uma compilação das contagens máximas observadas é apresentada na Tabela 4.14.

Observa-se pelos resultados apresentados nos Anexos 1 a 10 e na Tabela 4.14 apenas duas contagens no requeijão acondicionado no copo VAF do 1º Processamento, sendo que a maior foi de microrganismos mesófilos ($5,8 \times 10^2$ UFC/g). No requeijão de todas as embalagens do 2º Processamento observaram-se contagens microbianas muito variáveis de microrganismos mesófilos e psicrotróficos e esporos de anaeróbios mesófilos. Neste último caso, embora o microrganismo presente pudesse ser *Clostridium*, a contagem máxima observada foi baixa, de $2,4 \times 10^2$ NMP/g (B.PE, 4°C, 90 dias). Todas

as contagens observadas foram pequenas e independentes do tipo de embalagem e da temperatura de estocagem e não se observou aumento ao longo da estocagem.

No trabalho desenvolvido por SILVA (2003), foram determinadas contagens de mesófilos entre $3,0 \times 10^3$ e $7,5 \times 10^3$ UFC/g e de esporulados mesófilos entre $4,1 \times 10^2$ e $1,3 \times 10^3$ esporos/g e nenhuma alteração foi observada no requeijão cremoso tradicional 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.

De maneira geral, nos trabalhos onde se estuda o desenvolvimento de *Clostridium* em produtos, geralmente incubam-se os produtos com contagens de 10^3 que, na seqüência, são estocados à temperatura ambiente ou superior (22°C, 30°C ou 37°C) quando então observam-se alterações no produto como formação de gás, alteração de odor etc. (ROBERTS; ZOTTOLA, 1993; ZOTTOLA et al., 1994). Nesta linha, SILVA et al. (2003) verificaram que contagens de 10^2 esporos anaeróbios mesófilos/g de requeijão cremoso levaram a alterações no produto somente quando este foi estocado à 22°C e 37°C.

Desta forma, durante 90 dias (Processamento 1) e 180 dias (Processamento 2) de estocagem sob refrigeração a 4 °C e 10°C, verificou-se que nenhum dos requeijões apresentou desenvolvimento microbiano que evidenciasse diminuição da qualidade microbiológica dos mesmos.

Normalmente, a contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos é utilizada para avaliar a qualidade microbiológica global de um produto, pois fornece uma indicação de suas condições higiênicas. Uma microbiota mesófila numerosa indica um possível processo de deterioração de origem microbiana e sugere condições higiênicas deficientes durante a obtenção do leite cru e/ou condições de estocagem. Do ponto de vista sanitário, uma contagem de mesófilos acima de 10^5 UFC/mL pode trazer riscos à saúde devido a uma possível presença de microrganismos patogênicos (BOUGEOIS; CLERET, 1990).

TABELA 4.14 Contagens máximas de microrganismos no requeijão cremoso ao longo da estocagem do 1º e 2º Processamento.

Microrganismo	Proces- samento	VAF		VS		Pote PP		B. Coex		B.PE	
		10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	1º	<10	5,8x10 ²	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	2º	1,1x10 ³	<10	3,0x10 ³	5,9x10 ²	1,0x10 ⁴	<10	<10	1,0x10 ¹	1,1x10 ²	7,1 x10 ²
Microrganismos psicrotróficos (UFC/g)	1º	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	2º	2,0x10 ²	7,0x10 ¹	5,5x10 ⁴	9,0x10 ¹	1,4x10 ⁴	1,4x10 ²	1,2x10 ²	1,8x10 ³	1,8x10 ²	1,6x10 ²
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	1º	<10	1,0x10 ²	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	2º	5,3x10 ²	3,5x10 ²	4,9x10 ³	6,5x10 ²	<10	2,4x10 ²	3,2x10 ²	<10	1,0x10 ⁴	4,6x10 ³
Esporos aeróbios psicrotróficos (UFC/g)	1º	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2º	<10	2,2x10 ²	<10	<10	<10	<10	<10	<10	5,2x10 ²	3,0x10 ²
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	1º	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
	2º	9,3x10 ¹	9,3x10 ¹	2,3x10 ¹	9	7	1,5x10 ¹	4,3x10 ¹	1,4x10 ¹	9	2,4x10 ²
Esporos anaeróbios psicrotróficos (NMP/g)	1º	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
	2º	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Bolores e Leveduras (UFC/g)	1º	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	2º	1,7x10 ³	1,6x10 ²	1,7x10 ³	2,5x10 ²	<10	6,0x10 ¹	<10	9,6x10 ²	7,0x10 ¹	1,5x10 ³

VAF(Vidro Abre Fácil); VS (Vidro Selado); Pote PP (Pote Polipropileno); B.Coex (Bisnaga Coextrusada); B.PE (Bisnaga Polietileno)

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

A presença de um número elevado de bolores e leveduras também é indicativa de falhas ao longo do processamento, o que poderia comprometer a qualidade e vida útil do produto. Nos requeijões do 2º Processamento a maior contagem de bolores e leveduras foi de $1,7 \times 10^3$ UFC/g (VAF, 10°C, 147 dias).

Embora esses microrganismos indicadores, bem como os deteriorantes estivessem presentes na massa usada na formulação do requeijão, foram facilmente controlados com o tratamento térmico utilizado durante o seu processamento.

Outro fator que contribuiu foi a assepsia das embalagens com água clorada e o enchimento a quente das embalagens, seguido do fechamento e inversão da embalagem para pasteurizar a região do selo ou tampa. Todos esses procedimentos corretos de fabricação auxiliaram a obtenção de um produto de boa qualidade microbiológica, que se manteve estável durante todo o período de estocagem avaliado.

Além destes dois fatores, pode-se citar também o efeito protetor contra esporulados que os polifosfatos conferem ao requeijão, fato enfatizado por diversos autores em trabalhos publicados sobre o assunto (BERGER et al., 1997b; BRIOZZO et al., 1983; ECKNER et al., 1994; KAUTTER et al., 1979; KAUTTER et al., 1981; TANAKA et al., 1986).

Analises físico-químicas

Nas avaliações das características físico-químicas (pH, acidez, extrato seco total, atividade de água e índice de extensão de proteólise) dos requeijões dos Processamentos 1 e 2 ao longo da estocagem a 4°C e 10°C na ausência de luz, não se observou influência do tipo de embalagem, temperatura e tempo de estocagem. A compilação desses resultados é apresentada a seguir (Tabelas 4.15 a 4.17).

Os resultados de pH e acidez (Tabela 4.15) indicaram variações de pH entre 5,82 e 6,01 e de acidez entre 0,46 e 0,72% de ácido láctico. Não era esperada a ocorrência de acidificação do produto, devido às características do processo de obtenção da massa feita por meio de adição direta de ácido ao leite aquecido ao invés de utilização de culturas lácticas. Além disso, o tratamento térmico a que o requeijão foi submetido durante o processo de fabricação (FERNANDES; MARTINS, 1980) aliado à temperatura de estocagem confirmam a estabilidade microbiológica do produto discutida durante a apresentação dos resultados das análises microbiológicas (item 4.3.2.1).

Os resultados de pH e acidez estão dentro das faixas observadas por SILVA (2003) quando da avaliação de requeijão cremoso obtido em dois processamentos semelhantes ao do presente trabalho e em que o produto foi acondicionado em copos VAF (faixas de pH de 5,95 - 5,74 e 6,10 - 6,20 e de acidez de 0,60 - 0,74 e 0,50 - 0,64 % ácido láctico.).

Durante a estocagem, o extrato seco total dos requeijões dos 2 processamentos variou de 32,6 a 37,0%, ao passo que a atividade de água variou de 0,987 a 0,993 (Tabela 4.16). Assim sendo, o produto de alguns lotes apresentou extrato seco total inferior ao valor mínimo de 35% fixado na legislação, tanto no 1º como no 2º Processamento (BRASIL, 1998). As variações de atividade de água estão dentro da resolução do equipamento que é de 0,003Aa.

Durante a estocagem, o extrato seco total dos requeijões dos 2 processamentos variou de 32,6 a 37,0%, ao passo que a atividade de água variou de 0,987 a 0,993 (Tabela 4.16). Assim sendo, o produto de alguns lotes apresentou extrato seco total inferior ao valor mínimo de 35% fixado na legislação, tanto no 1º como no 2º Processamento (BRASIL, 1998). As variações de atividade de água estão dentro da resolução do equipamento que é de 0,003Aa.

TABELA 4.15 Valores médios de pH e acidez do requeijão cremoso ao longo da estocagem do 1º e 2º Processamentos.

Ensaio	Processamento/ Resultados	VAF		VS		Pote PP		B. Coex		B.PE		
		10ºC	4ºC	10ºC	4ºC	10ºC	4ºC	10ºC	4ºC	10ºC	4ºC	
pH	1º	M	5,93	5,92	5,92	5,93	5,92	5,95	5,90	5,91	5,91	5,93
		IV	5,87-5,99	5,87-5,97	5,82-5,97	5,87-6,00	5,82-5,98	5,91-5,97	5,82-5,97	5,87-5,93	5,82-5,96	5,87-5,98
		CV (%)	0,6	0,6	0,8	0,7	1,0	0,4	0,7	0,3	0,9	0,7
	2º	M	5,90	5,94	5,90	5,92	5,90	5,93	5,91	5,92	5,89	5,90
		IV	5,84-6,00	5,84-6,03	5,85-6,00	5,85-6,00	5,84-6,00	5,84-6,01	5,82-6,01	5,82-6,01	5,82-5,99	5,82-6,00
		CV (%)	1,2	1,2	1,1	1,1	1,1	1,1	1,2	1,1	1,2	1,2
Acidez (% A L)	1º	M	0,64	0,63	0,64	0,64	0,63	0,65	0,61	0,63	0,64	0,63
		IV	0,59-0,71	0,54-0,71	0,59-0,68	0,59-0,68	0,54-0,71	0,62-0,72	0,59-0,66	0,59-0,69	0,59-0,71	0,59-0,72
		CV (%)	6,5	8,4	5,5	5,2	9,0	4,9	4,8	6,6	6,6	7,1
	2º	M	0,58	0,57	0,59	0,57	0,57	0,56	0,57	0,57	0,57	0,56
		IV	0,46-0,69	0,46-0,68	0,51-0,67	0,49-0,67	0,47-0,65	0,46-0,65	0,49-0,68	0,49-0,67	0,46-0,67	0,46-0,70
		CV (%)	13,6	13,6	9,5	9,8	10,6	11,6	11,5	11,1	13,0	14,5

Valores referentes a oito e nove determinações, respectivamente para o 1º e 2º Processamento

M – Média; IV - Intervalo de variação; CV - Coeficiente de variação

VAF(Vidro Abre Fácil); VS (Vidro Selado); Pote PP (Pote Polipropileno); B.Coex (Bisnaga Coextrusada); B.PE (Bisnaga Polietileno)

TABELA 4.16 Valores médios de extrato seco total (EST) e atividade de água do requeijão cremoso ao longo da estocagem do 1º e 2º Processamentos.

Ensaio	Processamento/ Resultados	VAF		VS		Pote PP		B. Coex		B.PE		
		10ºC	4ºC	10ºC	4ºC	10ºC	4ºC	10ºC	4ºC	10ºC	4ºC	
EST (%)	1º	M	35,2	34,7	33,8	34,2	35,2	34,7	34,2	33,8	34,0	33,7
		IV	33,6-36,6	33,6-36,4	32,9-34,9	33,5-34,8	33,9-36,3	33,7-36,3	33,2-34,9	32,6-35,0	33,1-34,7	32,6-34,6
		CV (%)	3,5	3,4	2,3	1,2	2,9	2,8	1,7	2,8	2,1	2,1
	2º	M	35,5	35,5	35,8	35,6	34,9	35,2	35,6	35,8	35,7	35,7
		IV	33,5-37,0	33,7-36,7	35,0-36,5	34,3-36,4	33,6-36,6	33,7-36,6	35,0-36,1	35,5-36,2	35,1-36,0	35,1-36,0
		CV (%)	2,8	2,8	1,3	1,8	2,6	2,6	0,8	0,6	0,8	0,8
Atividade de água	1º	M	0,990	0,990	0,990	0,990	0,990	0,990	0,990	0,990	0,990	0,990
		IV	0,988-0,993	0,988-0,992	0,988-0,992	0,987-0,992	0,988-0,992	0,989-0,992	0,988-0,992	0,988-0,992	0,988-0,991	0,988-0,991
		CV (%)	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
	2º	M	0,990	0,991	0,990	0,990	0,989	0,990	0,990	0,990	0,989	0,990
		IV	0,988-0,992	0,989-0,992	0,989-0,991	0,989-0,991	0,988-0,990	0,989-0,991	0,988-0,991	0,988-0,991	0,987-0,991	0,988-0,991
		CV (%)	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1

Valores referentes a oito e nove determinações, respectivamente para o 1º e 2º Processamento

M – Média; IV - Intervalo de variação; CV - Coeficiente de variação

VAF(Vidro Abre Fácil); VS (Vidro Selado); Pote PP (Pote Polipropileno); B.Coex (Bisnaga Coextrusada); B.PE (Bisnaga Polietileno)

TABELA 4.17 Valores médios de nitrogênio solúvel e índice de extensão de proteólise do requeijão cremoso ao longo da estocagem do 1º e 2º Processamentos.

Ensaio	Processamento / Resultados	VAF		VS		Pote PP		B. Coex		B.PE	
		10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C
Nitrogênio solúvel (%)	1º	Média	0,10	0,07	0,06	0,07	0,08	0,08	0,07	0,06	0,07
		Mínimo	0,07	0,06	0,05	0,05	0,06	0,06	0,06	0,05	0,06
		Máximo	0,16	0,08	0,07	0,09	0,13	0,12	0,09	0,08	0,08
	2º	Média	0,10	0,09	0,09	0,10	0,10	0,10	0,11	0,10	0,11
		Mínimo	0,08	0,07	0,07	0,06	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08
		Máximo	0,13	0,11	0,11	0,16	0,14	0,13	0,17	0,11	0,19
Índice de extensão da proteólise (%)	1º	Média	4,8	3,8	3,3	4,2	4,0	4,2	4,4	3,6	4,1
		Mínimo	3,5	3,4	2,4	2,4	2,9	3,4	3,6	2,9	3,5
		Máximo	6,8	4,6	4,0	5,5	5,1	4,8	5,1	4,5	4,8
	2º	Média	5,8	5,1	5,0	4,8	6,2	5,8	6,1	5,6	6,4
		Mínimo	4,5	4,0	3,9	3,5	3,6	2,4	4,7	4,8	4,6
		Máximo	7,6	6,9	5,6	6,5	10,8	8,6	8,9	10,7	11,8

Valores referentes a sete determinações

VAF(Vidro Abre Fácil); VS (Vidro Selado); Pote PP (Pote Polipropileno); B.Coex (Bisnaga Coextrusada); B.PE (Bisnaga Polietileno)

A tendência de não haver redução da atividade de água do requeijão cremoso ou de aumento percentual do extrato seco indicam que todas as cinco opções de embalagem estudadas atendem ao requisito de barreira ao vapor d'água do produto em questão, nas condições do estudo. As câmaras utilizadas na estocagem apresentavam grandes variações na umidade relativa, de 80-90%UR na de $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e de 75-85%UR na de $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$, o que poderia ter levado o produto a perder umidade se as embalagens não apresentassem barreira ao vapor d'água adequada.

Estes resultados concordam com as informações da literatura onde o problema de perda de umidade em queijo processado pode ser eliminado/minizado estocando em baixas temperaturas e/ou pelo uso de embalagens barreira ao vapor d'água (SCHAR; BOSSET, 2002).

Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo como os encontrados por GOYAL e BABU (1991) que verificaram perda de umidade não significativa em queijo Cheddar processado acondicionado em copos de poliestireno e bisnagas de PEBD durante estocagem a $7-8^{\circ}\text{C}/80\%\text{UR}$. Entretanto, os autores observaram perda de umidade do produto estocado por 30 dias $30^{\circ}\text{C}/60\%\text{UR}$.

EL-SHIBINY et al. (1996) também verificaram perda mais significativa de umidade em queijo processado estocado por 3 meses a $25-30^{\circ}\text{C}$ comparativamente a $5-8^{\circ}\text{C}$, quando o produto foi acondicionado a vácuo em estruturas flexíveis (PA/PE, PET/PE).

O índice de extensão de proteólise (Tabela 4.17) calculado para as amostras ao longo da estocagem foi baixo até 150 dias e aumentou ligeiramente aos 180 dias do 2º Processamento (valor máximo de 11,8%) no produto acondicionado nas embalagens plásticas, confirmando a estabilidade do sistema protéico do produto nas condições estudadas.

Aumento de nitrogênio solúvel em queijos processados foi observado quando estes eram acondicionados em embalagens plásticas, mas estocados a $25-30^{\circ}\text{C}$ (GOYAL; BABU, 1991; EL-SHIBINY et al., 1996).

Os valores obtidos na determinação dos compostos reativos ao TBA para os 2 processamentos podem ser vistos nas Figuras 4.5 e 4.6.

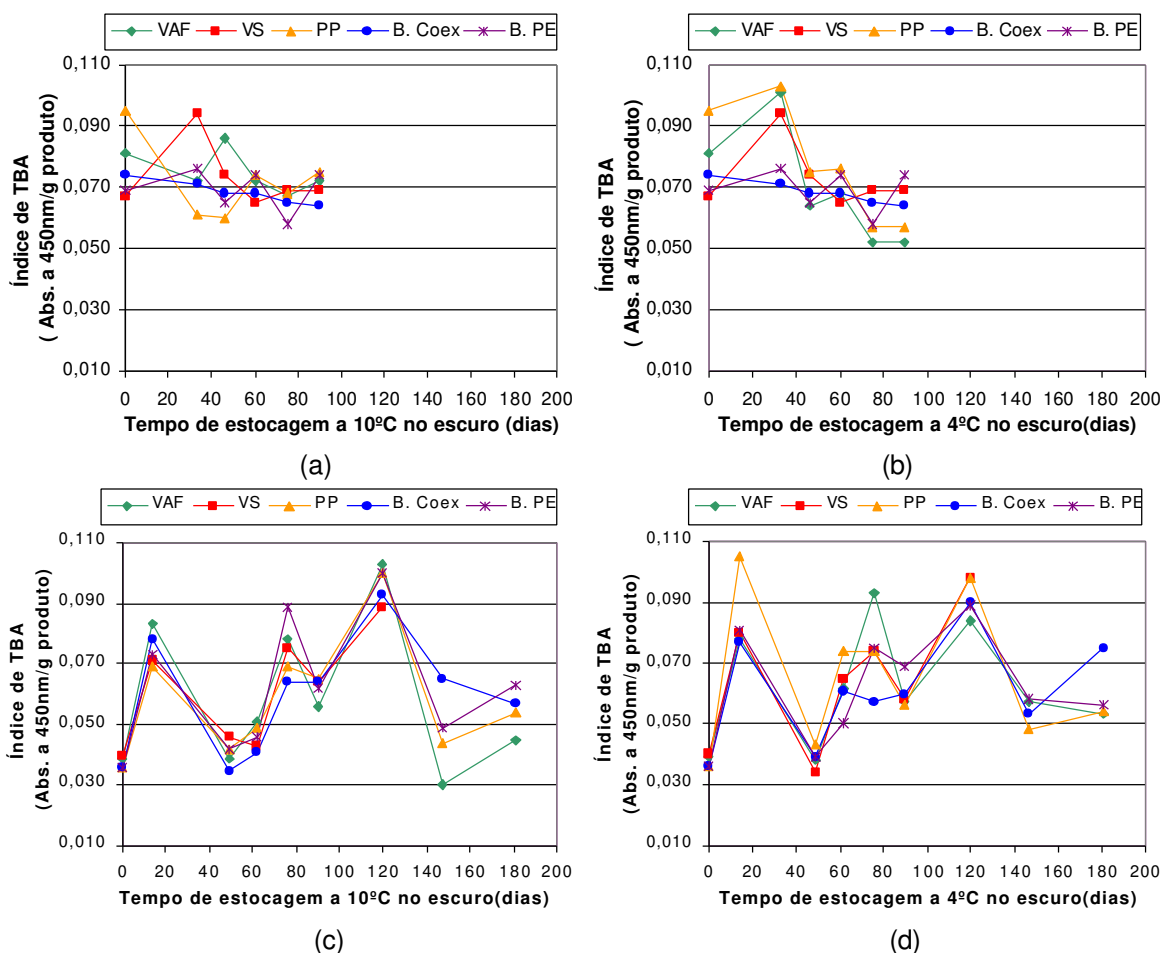


FIGURA 4.5 Variação do índice de TBA do requeijão cremoso ao longo da estocagem à (a) 10°C e (b) 4°C– 1º Processamento e (c) 10°C e (d) 4°C– 2º Processamento.

No 1º e 2º Processamentos a leitura de absorbância foi realizada a 450nm, que é o comprimento de onda recomendado para leitura de produtos de laticínios (KRISTENSEN; SKIBSTED, 1999; KRISTENSEN et al., 2001; NAWAR, 1996) uma vez que esses produtos apresentam maior incidência de ácidos graxos monoinsaturados, que quando oxidados, formam principalmente aldeídos monoinsaturados. Esses aldeídos ao reagirem com o reagente do ensaio de TBA levam à formação de um pigmento amarelo de maior absorção a 450nm.

Entretanto, os resultados obtidos até os 90 dias de estocagem do 1º Processamento (Figuras 4.5 a e b) indicaram uma redução de formação de compostos secundários da oxidação com o tempo de estocagem ($p < 0,05$), independentemente da temperatura e do tipo de embalagem ($p > 0,05$) (valores de 0,052 a 0,101 Absorbância a 450nm/g amostra). Nas avaliações das amostras do 2º Processamento, os resultados de TBA lidos a 450nm

foram independentes do tipo de embalagem/temperatura ($p>0,05$) e oscilaram ao longo dos 180 dias ($p<0,05$) entre valores de 0,030 a 0,100 Absorbância a 450nm/g amostra.

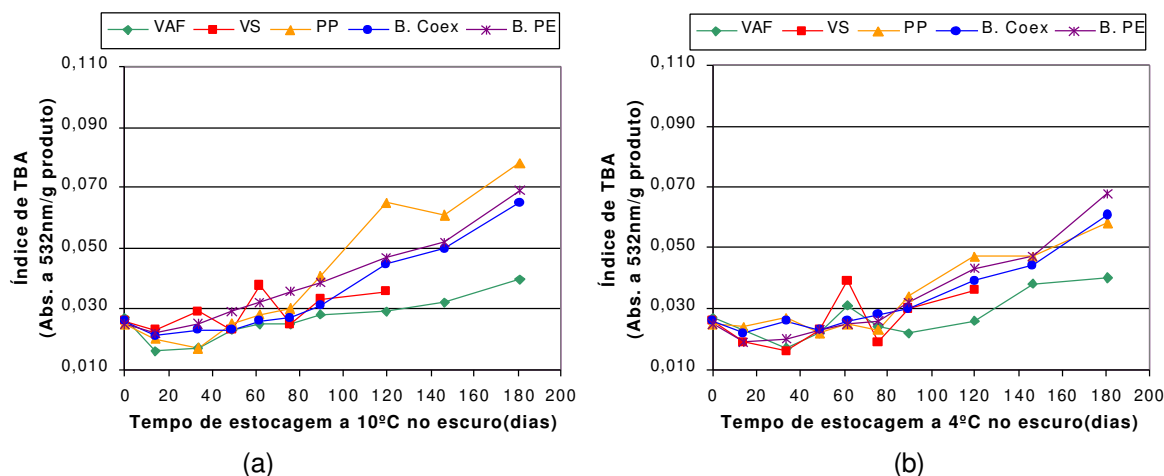


FIGURA 4.6 Variação do índice de TBA do requeijão cremoso ao longo da estocagem à (a) 10°C e (b) 4°C– 2º Processamento.

Como os resultados do índice de TBA medidos a 450nm no 1º Processamento não apresentaram correlação com o leve desenvolvimento de ranço do produto (resultados sensoriais apresentados a seguir), a partir do 2º Processamento a leitura também foi feita a 532nm. Também ficou mais evidente o desenvolvimento de uma coloração rósea quando do preparo da amostra para o ensaio e, nestes casos, 532nm é o comprimento de onda recomendado por NAWAR (1996) e HOYLAND e TAYLOR (1991).

Os valores de índice de TBA quantificados a 532nm (faixa de 0,015 a 0,078 Absorbância a 532nm/g produto) indicaram um efeito significativo ($p<0,05$) do tempo / temperatura / embalagem e interações embalagem/tempo e embalagem/temperatura (Figura 4.6). Deste modo, ao longo da estocagem (principalmente a partir de 90 dias), verificou-se maior formação de produtos secundários de oxidação, mais significativamente nas embalagens plásticas e na maior temperatura de estocagem (10°C), confirmando o que foi constatado nas análises sensoriais que será discutido posteriormente no item 4.3.2.3.

KRISTENSEN e SKIBSTED (1999) também quantificaram cerca de 0,03 Abs. a 450nm/g amostra para queijos processados acondicionados em vidro e estocados a 5 e 20°C no escuro por 15 meses. Os resultados foram significativamente maiores em estocagem a 37°C no escuro (cerca de 0,08 Abs. a 450nm/g amostra) quando, devido à temperatura, ocorreu escurecimento pelo desenvolvimento da reação de Maillard, levando

à formação de hidroximetilfurfural que também contribui para a formação de pigmento amarelo na reação com TBA, conforme descrito por KRISTENSEN et al. (2001).

KRISTENSEN et al. (2001) quantificaram valores relativamente constantes de TBARS (compostos reativos ao TBA) a 450nm em queijo processado acondicionado em vidro por 400 dias a 4 e 20°C no escuro (0,02 a 0,04 Absorbância a 450nm/g amostra) e valores relativamente maiores a 37°C (0,0804 Absorbância a 450nm/g amostra).

Assim, os resultados obtidos neste estudo para o requeijão cremoso estão dentro da faixa quantificada nesses trabalhos e, provavelmente, o escurecimento dos queijos processados por eles avaliados levaram a maiores leituras a 450nm, o que não ocorreu no caso do requeijão cremoso, conforme será apresentado na discussão das avaliações sensoriais.

EL-SHIBINY et al. (1996) também verificaram aumento do índice de TBA em queijo processado acondicionado a vácuo em diferentes tipos de embalagens (vidro, PA/PE, PET/PE, PET/Al/PE) durante estocagem a 5-8°C e 25-30°C por 3 meses, mas as alterações foram mais acentuadas no produto mantido à temperatura ambiente.

Análises sensoriais

Os resultados das avaliações sensoriais do requeijão cremoso ao longo da estocagem a 10°C e 4°C, em ausência de luz, demonstraram não haver diferenças significativas no requeijão cremoso acondicionados nas diferentes embalagens quanto aos atributos de cor (variações de 0,5 a 1,2 onde 0= cor branca-creme característica e 9= cor escura), odor característico (variações de 0,4 a 1,2 onde 0= odor característico e 9= odor não característico), gosto ácido (variações de 0,7 a 1,9 onde 0= fraco e 9= forte) e gosto amargo (variações de 0,3 a 1,6 onde 0= nenhum e 9= muito).

Alterações na cor ocorreriam caso houvesse perda de umidade do produto ao longo da estocagem, se as embalagens não apresentassem adequada barreira ao vapor d'água. Assim, os resultados obtidos com este atributo sensorial confirmam os resultados de extrato seco total e de atividade de água do produto apresentados na Tabela 4.15. Escurecimento em queijo processado foi observado quando este foi estocado à 37°C devido à Reação de Maillard (KRISTENSEN et al., 2001).

A não alteração de gosto ácido também confirma a não acidificação do produto ao longo da estocagem nas duas temperaturas e diferentes embalagens, o que é decorrente

da estabilidade microbiológica obtida com o tipo de processo de fabricação utilizado (coagulação ácida direta a quente, seguida de tratamento térmico durante a fusão da massa e acondicionamento a quente do produto em embalagens herméticas). Assim, estes resultados estão de acordo com as avaliações microbiológicas (Anexos A1 a A10) e com os resultados de pH e acidez (Tabela 4.15). Pode ocorrer certo aumento de acidez quando se utiliza fermento láctico para acidificar o leite e obter a massa coagulada, que é um outro tipo de processo de fabricação de requeijão cremoso (RAPACCI et al., 1999).

O fato de não ter havido desenvolvimento de sabor amargo no requeijão cremoso ao longo da estocagem confirma a inexistência de proteólise neste produto durante a estocagem, já apresentada anteriormente (Tabela 4.17), devido principalmente ao tipo de produto, processo de fabricação e qualidade microbiológica das matérias-primas utilizadas (Tabelas 4.5 e 4.7).

Na Figura 4.7 são apresentados os resultados de perda de odor característico do produto nas diferentes embalagens, durante os períodos de estocagem estudados a 10 e 4°C, na ausência de luz.

Até 90 dias de estocagem a 10°C e 120 dias a 4°C, independentemente do tipo de embalagem utilizado, na ausência de luz, foram verificadas pequenas alterações nas demais características sensoriais avaliadas no requeijão cremoso quanto aos seguintes atributos: sabor característico (Figura 4.8), desenvolvimento de sabor de ranço (Figura 4.9) e perda de qualidade global (Figura 4.10 avaliado somente no 2º Processamento).

Após os períodos de 90 dias de estocagem a 10°C e 120 dias a 4°C, verificou-se perda de sabor característico (Figura 4.8), desenvolvimento de sabor de ranço (Figura 4.9) e perda de qualidade global (Figura 4.10) mais acentuada no produto acondicionado nas bisnagas de PE (mais permeável ao oxigênio), seguido pelo produto do pote de PP (segunda embalagem mais permeável ao oxigênio entre as embalagens em estudo e a que apresentava o maior volume de espaço-livre) e, na sequência, pelo produto acondicionado na bisnaga Coex. A perda de qualidade nas duas embalagens de vidro (VAF e VS) foi semelhante durante os períodos em que ainda havia amostras de vidro selado - VS para comparar os dois processamentos.

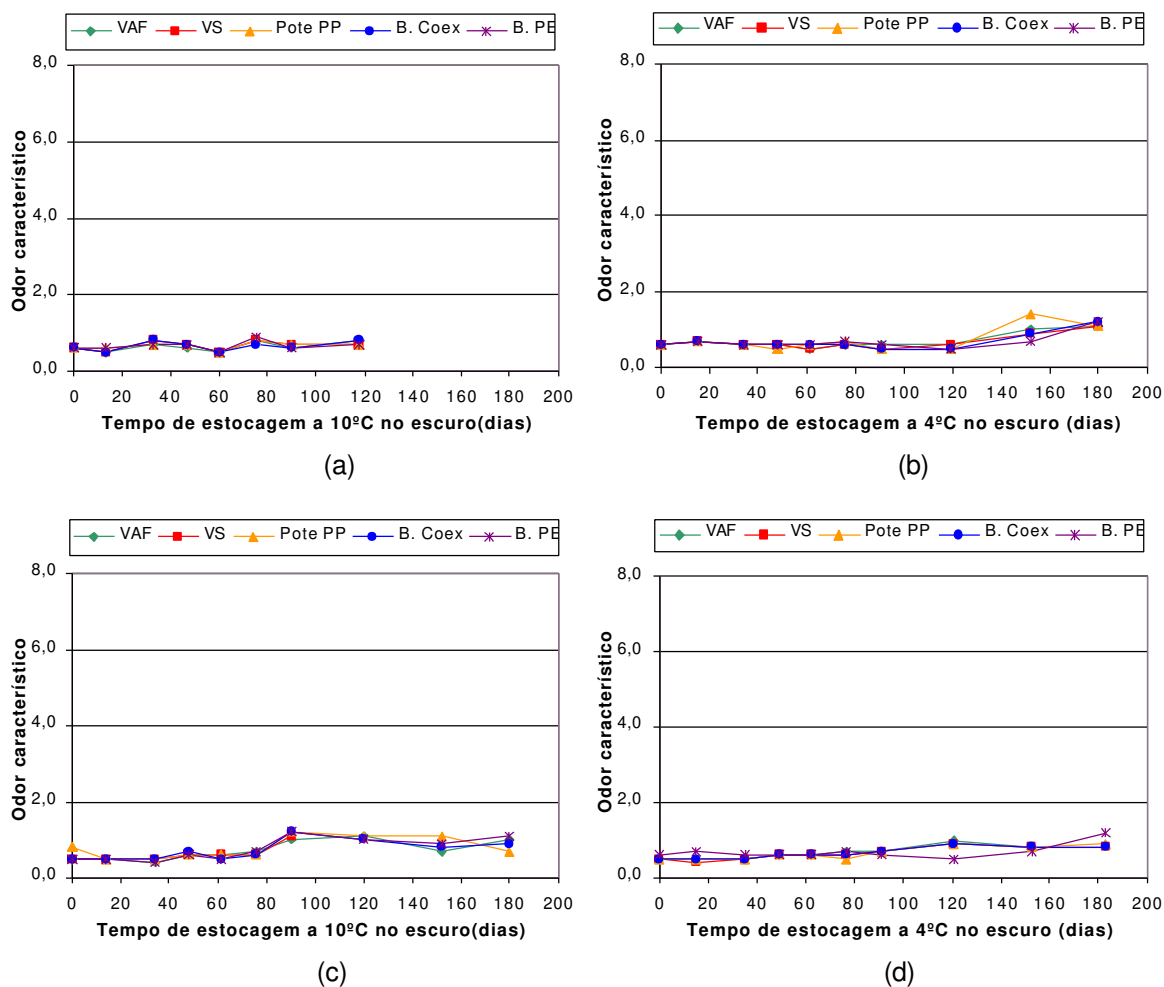


FIGURA 4.7 Perda de odor característico do requeijão cremoso ao longo da estocagem à (a) 10°C e (b) 4°C – 1º Processamento e (c) 10°C e (d) 4°C – 2º Processamento (0=característico, 9=não característico).

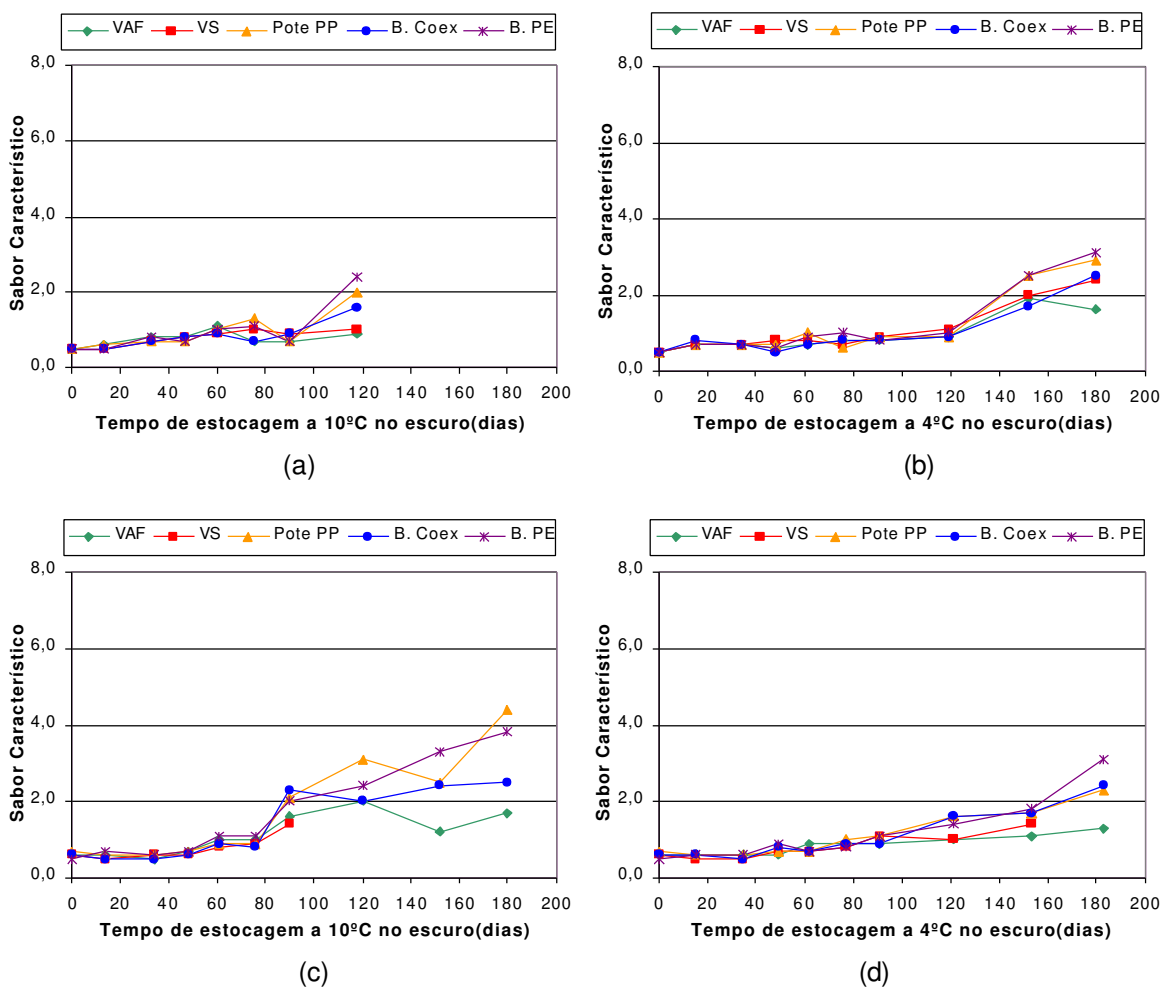


FIGURA 4.8 Perda de sabor característico do requeijão cremoso ao longo da estocagem à (a) 10°C e (b) 4°C – 1º Processamento e (c) 10°C e (d) 4°C – 2º Processamento (0=característico, 9=não característico).

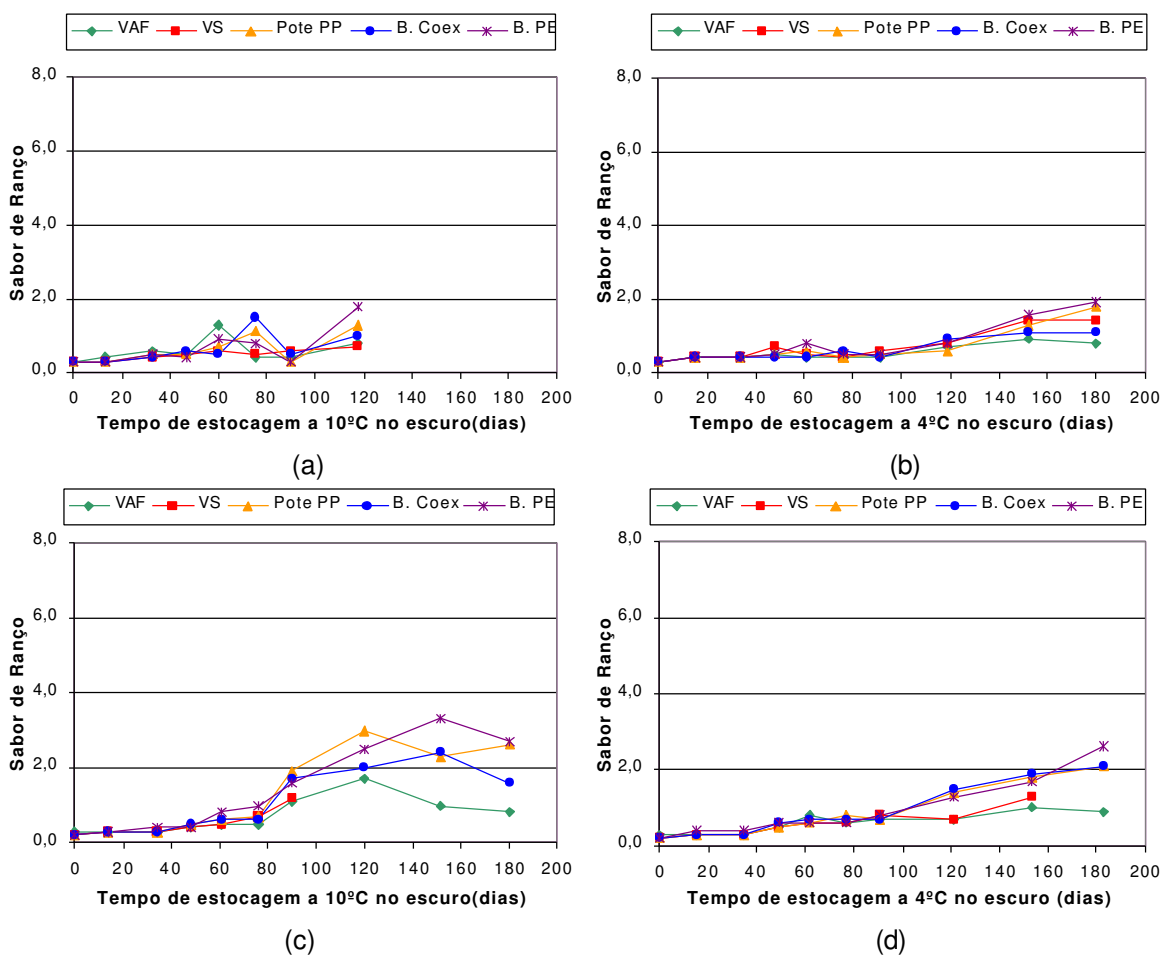


FIGURA 4.9 Desenvolvimento de sabor de ranço no requeijão cremoso ao longo da estocagem à (a) 10°C e (b) 4°C – 1º Processamento e (c) 10°C e (d) 4°C – 2º Processamento (0=ausente, 9=forte).

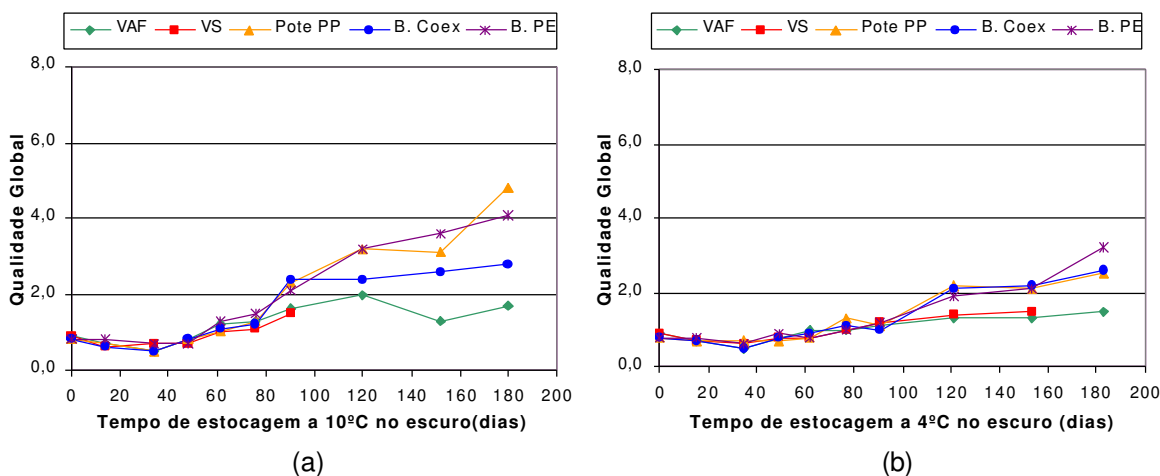


FIGURA 4.10 Perda de qualidade global no requeijão cremoso ao longo da estocagem à (a) 10°C e (b) 4°C – 2º Processamento (0=excelente, 9=péssimo).

Na análise estatística ANOVA, feita para os atributos odor/sabor característico e sabor de ranço com todos os resultados obtidos até 120 dias de estocagem na ausência de luz do 1º Processamento, verificou-se que foram significativos ($p < 0,05$) o efeito da temperatura, do tempo de estocagem e a interação tempo/temperatura e não significativos ($p > 0,05$) os efeitos tipo de embalagem e as interações embalagem/tempo e embalagem/temperatura. Este tipo de análise indicou que, ao longo dos 120 dias de estocagem, no produto do 1º Processamento a perda de sabor característico e o desenvolvimento de ranço aumentaram significativamente com o transcorrer do tempo de estocagem, tendo sido mais acentuados a 10°C do que à 4°C e foram independentes do tipo de embalagem na qual o produto estava acondicionado. Os resultados de perda de odor característico apenas oscilaram ao longo da estocagem.

Esta mesma conclusão foi obtida na ANOVA, feita para os atributos odor/sabor característico, sabor de ranço e qualidade global para os cinco tipos de embalagem até 90 dias de estocagem do 2º Processamento (último período onde o VS foi avaliado a 10°C), quando verificou-se que foram significativos a nível de 5% ($p < 0,05$) o efeito da temperatura, do tempo de estocagem e a interação tempo/temperatura e não foram significativos ($p > 0,05$) o efeito do tipo de embalagem e as interações embalagem/tempo e embalagem/temperatura. Assim, ao longo dos 90 dias de estocagem do produto do 2º Processamento, a perda de odor/sabor característico, o desenvolvimento de ranço e a perda de qualidade global aumentaram significativamente com o transcorrer do tempo de estocagem, sendo mais acentuados à 10°C do que à 4°C e independeram do tipo de embalagem no qual o produto estava acondicionado.

Repetindo-se esta ANOVA para os atributos odor/sabor característico, sabor de ranço e qualidade global dos produtos do 2º Processamento até os 180 dias de estocagem (neste caso sem o VS), foram significativos ($p < 0,05$) o efeito da temperatura, o tempo de estocagem, o tipo de embalagem e as interações tempo/temperatura e embalagem/tempo. A perda de odor característico ocorreu semelhante ao descrito até os 90 dias de estocagem. Assim, ao longo dos 180 dias de estocagem do 2º Processamento, a perda de sabor característico, o desenvolvimento de ranço e a perda de qualidade global aumentaram com o tempo de estocagem, tendo sido mais acentuados à 10°C do que à 4°C, e foram diferenciados ao longo do tempo dependendo do tipo de embalagem na qual o produto estava acondicionado. Um exemplo do resultado da ANOVA feita com os resultados de qualidade global são apresentados no Anexo 20.

Assim, efetuou-se uma análise estatística para verificar quando os produtos das diferentes embalagens diferiam significativamente. Repetiu-se a ANOVA para cada época de estocagem/temperatura de condicionamento com esses resultados sensoriais, tendo sido verificadas diferenças significativas a nível de 5%, para os parâmetros sabor característico, ranço e qualidade global, aos 150 e 180 dias a 10°C e 180 dias a 4°C, sendo que em geral apenas o produto da bisnaga PE diferia significativamente do acondicionado no VAF. O produto do pote de PP diferiu significativamente do VAF e do produto da bisnaga Coex quanto à perda de sabor característico e de qualidade global aos 180 dias à 10°C. Nas demais épocas os produtos do pote de PP e da bisnaga Coex não diferiam significativamente dos produtos no VAF e na bisnaga PE.

A única exceção ocorreu aos 180 dias a 10°C para sabor característico e qualidade global do requeijão no Pote PP, que foi avaliado como sendo pior do que o da bisnaga PE, embora os provadores não tenham detectado ranço mas consideraram que o produto do pote de PP apresentava um gosto estranho, identificado por alguns provadores como sendo um “gosto de plástico”.

Os resultados obtidos indicam que na ausência de luz, até 150 dias de estocagem a 10°C e 180 dias a 4°C, a auto-oxidação do produto foi pouco perceptível sensorialmente e não dependeu do tipo de embalagem na qual o produto está acondicionado.

A partir de 120 dias de estocagem a 10°C e de 150 dias a 4°C, a auto-oxidação do produto acentuou-se nas embalagens plásticas, principalmente naquelas com maior quantidade de oxigênio disponível, por ser mais permeável (caso da bisnaga PE) ou por apresentar maior espaço-livre (pote de PP), embora até 180 dias de estocagem o produto de nenhuma embalagem tenha atingido uma perda maior que 50% em cada atributo sensorial avaliado correspondente a um valor médio foi igual ou maior que 4,5, que representa a metade da escala utilizada nos testes sensoriais.

Os resultados sensoriais estão de acordo com os resultados de acompanhamento do teor e volume de oxigênio do espaço-livre das embalagens (Figuras 4.3 e 4.4), principalmente quando se observa que foi muito baixo o consumo de oxigênio presente no espaço-livre das embalagens onde este gás não é facilmente repostado por permeação (copos de vidro e bisnaga Coex).

O copo VAF preservou melhor a qualidade do produto, comparativamente ao observado nas embalagens plásticas e no VS, devido à menor disponibilidade de oxigênio deste sistema de embalagem.

Entre os dois tipos de bisnagas, a Coex preservou por mais tempo a qualidade do requeijão cremoso devido à melhor barreira ao oxigênio (Tabela 4.4).

Com relação à auto-oxidação do produto, os resultados das análises sensoriais de desenvolvimento de ranço e perda de qualidade global apresentam uma boa correlação com os índices de TBA - medidos a 532nm (Figura 4.6), uma vez que os coeficientes de correlação foram de 0,89 e 0,93, respectivamente.

Nos trabalhos com queijos processados estocados no escuro (GOYAL; BABU, 1991; EL-SHIBINY et al., 1996) também observou-se melhor preservação da qualidade do produto no escuro, principalmente nas embalagens que apresentavam barreira ao oxigênio, mas, devido ao fato da estocagem ter sido efetuada à temperatura ambiente tornou-se o efeito da barreira a gases mais significativo.

Entre esses, EL-SHIBINY et al. (1996) avaliaram o efeito do uso de diferentes tipos de embalagem (vidro, PA/PE, PET/PE, PET/Al/PE) na estabilidade de queijo processado acondicionado a vácuo, durante estocagem a 5-8°C e 25-30°C por 3 meses. Os autores concluíram que o efeito da temperatura de estocagem sobre a qualidade do produto foi maior do que o tipo de embalagem. Durante a estocagem ocorreu decréscimo da umidade e lactose, aumento de nitrogênio solúvel e formação de hidroximetilfurfural (escurecimento). A qualidade sensorial do queijo pouco se alterou sob refrigeração, mas foi melhor preservada nas embalagens de vidro e de PET/Al/PE quando da estocagem à temperatura ambiente.

4.3.3 Conclusões – Estabilidade do requeijão cremoso na ausência de luz

Com base nos resultados obtidos nos estudos de estabilidade do requeijão cremoso estocado na ausência de luz à 4±2°C/ 80 - 90%UR e 10±2°C/ 75 - 85%UR tem-se que:

- De maneira geral, não foram observadas alterações microbiológicas no requeijão cremoso acondicionado nos cinco tipos de embalagem indicando condições adequadas de processo e de fechamento das embalagens em estudo.

- O produto se manteve estável em relação às características físico-químicas, uma vez que as variações observadas na maioria dos ensaios são consideradas normais para requeijão cremoso.
- O sistema protéico do produto, avaliado pelo índice de proteólise, se mostrou estável em todas as embalagens até 150 dias de estocagem e até 180 dias no copo de VAF.
- Todas as embalagens em estudo apresentaram barreira ao vapor d'água adequada, preservando a umidade e a cor do produto.
- Na ausência de luz, até 120 dias de estocagem a 10°C e 150 dias a 4°C, a oxidação do produto foi pouco perceptível sensorialmente e independe do tipo de embalagem em que o produto é acondicionado, ou seja, independe da disponibilidade de oxigênio. A partir de 150 dias de estocagem a 10°C e 180 dias a 4°C, a oxidação do produto acentuou-se nas embalagens plásticas, principalmente na bisnaga PE e pote de PP, embora até 180 dias de estocagem o produto de nenhuma embalagem tenha sido rejeitado sensorialmente. Os resultados de índices de TBA determinados a 532nm confirmaram os resultados da avaliação sensorial.
- Assim, em estocagem sob refrigeração e na ausência de luz, não é esperada interferência na estabilidade do produto do nível de barreira ao oxigênio da embalagem, bem como da quantidade de oxigênio disponível no espaço-livre. Entretanto, para períodos de estocagem entre 120 e 180 dias, observou-se uma melhor preservação da qualidade do produto no copo de vidro abre-fácil (VAF), sistema de embalagem na qual a disponibilidade de oxigênio é menor.
- A incorporação de barreira ao oxigênio na bisnaga plástica leva a maior preservação da qualidade sensorial do produto, mas este ganho não é significativo se forem fixados períodos de vida útil de até 120 dias.

No mercado nacional, o requeijão cremoso é comercializado com um prazo de validade de 60 ou 90 dias, o que é plenamente atingido pelo produto nos cinco sistemas de embalagem estudados. Entretanto, na venda a varejo, por certo período o produto é exposto à luz, e o efeito desta exposição nas principais características do produto foi objeto de pesquisa na segunda etapa do presente estudo.

4.4 Estudo da estabilidade do produto sob exposição à luz

4.4.1 Estudo preliminar

4.4.1.1 Análises periódicas das embalagens

Peso líquido e vácuo

O peso líquido de requeijão cremoso por tipo de embalagem utilizado no 3º processamento é apresentado na Tabela 4.18.

A partir do 3º Processamento, o enchimento das embalagens de requeijão cremoso foi realizado com dosadora e envasadora semi-automática para produtos líquidos e pastosos, marca Biasinox, o que permitiu um melhor controle de peso líquido de produto por embalagem (coeficientes de variação de 0,9 a 1,8%).

No copo de VAF e no pote de PP, manteve-se o peso líquido de 250g de requeijão cremoso e nas bisnagas plásticas elevou-se o peso líquido para 185g de produto, visando minimizar o volume do espaço-livre.

O nível de vácuo dos copos de VAF ao longo da estocagem foi em média de 17,0polHg (dezoito determinações), variando de 17,0 a 18,0pol Hg.

Volume e composição gasosa do espaço-livre

Na Tabela 4.18 também são apresentados os resultados de volume de gases do espaço-livre nas embalagens de requeijão, quantificados ao longo da estocagem a 10°C sob 1000lux.

TABELA 4.18 Peso líquido de requeijão e volume de gases do espaço-livre das embalagens do 3º Processamento.

Ensaio	Resultados	VAF	VS	Pote PP	B. Coex	B. PE
Peso líquido* (g)	M	248,4	186,3	256,2	186,2	186,3
	IV	233,4-259,7	181,7-191,9	251,8- 266,0	178,1-191,9	180,6-192,6
	CV (%)	1,7	1,1	1,2	1,8	1,5
Volume** (mL a 25°C e 0,94atm)	M	4,9	15,2	69,0	4,8	7,1
	IV	3,4 – 7,7	10,4 – 18,6	57,1 – 75,3	2,6 – 11,8	3,6 – 12,2

Valores referentes a (*) trinta e seis e (**) dez determinações

M – Média; IV - Intervalo de variação; CV - Coeficiente de variação

VAF (Vidro Abre Fácil); VS (Vidro selado); Pote PP (Pote Polipropileno); B.Coex (Bisnaga Coextrusada); B.PE (Bisnaga Polietileno)

Observou-se variação no volume de gases do espaço-livre, fruto de variações na temperatura de enchimento e também devido ao consumo de oxigênio, como será visto a seguir.

Com o uso da enchadeira foram minimizadas as variações de peso líquido, mas outras variáveis, tais como o processo descontínuo com fusão do requeijão em pequenos lotes, (cerca de 20kg/lote) aliado ao transporte manual das embalagens até as máquinas de fechamento semi-automático, levaram a variações na temperatura de enchimento e consequentemente a variações no volume de gases do espaço-livre.

Dependendo do volume de gases do espaço-livre, maior ou menor é a quantidade de oxigênio disponível para as reações de oxidação da gordura do requeijão cremoso.

Assim, a partir do volume médio de gases do espaço-livre no início da estocagem de cada tipo de embalagem e, considerando que inicialmente este volume continha 21% de oxigênio (teor de oxigênio do ar atmosférico), pode-se calcular a disponibilidade de oxigênio nas embalagens, bem como a quantidade de oxigênio por quantidade de produto, conforme apresentado na Tabela 4.19.

Desta forma, o volume de oxigênio disponível no espaço-livre por quantidade de produto do pote de PP era 14 vezes maior que no VAF, 8 vezes maior que nas bisnagas plásticas e 3 vezes maior que no copo VS. Esta mesma relação comparativa entre o VS e as demais embalagens foi de que o volume de oxigênio disponível no espaço-livre do VS era 4 vezes maior que no VAF e 2 vezes maior que nas bisnagas.

TABELA 4.19 Quantidade de oxigênio no espaço-livre das embalagens no início da estocagem sob 1000lux e 10°C – 3º Processamento.

Embalagem	Volume de gases do espaço-livre (mL*)	Volume de oxigênio do espaço-livre (mL*)	Peso líquido (g)	mL* de O ₂ / g de produto
VAF	5	1,0	250	0,004
VS	15	3,2	186	0,017
Pote PP	69	14,5	256	0,058
B. Coex B. PE	6	1,3	186	0,007

* mL a 25°C e 0,94atm

O acompanhamento do teor de oxigênio no espaço-livre das embalagens ao longo da estocagem a 10°C é apresentado na Figura 4.11.

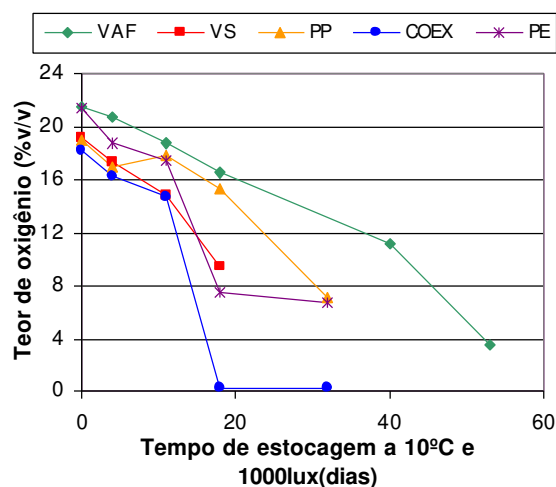


FIGURA 4.11 Teor de oxigênio no espaço-livre das embalagens de requeijão cremoso ao longo da estocagem sob 1000lux e 10°C - 3º Processamento.

Observa-se a ocorrência de uma redução drástica na concentração de oxigênio no espaço-livre, inicialmente de 21%, em todas as embalagens.

Uma vez que, quando foram avaliados o volume a o teor de oxigênio do espaço-livre das embalagens, calculou-se o volume de oxigênio (mL a 25°C e 0,94atm) presente no espaço-livre das embalagens ao longo da estocagem e estes resultados são apresentados na Figura 4.12.

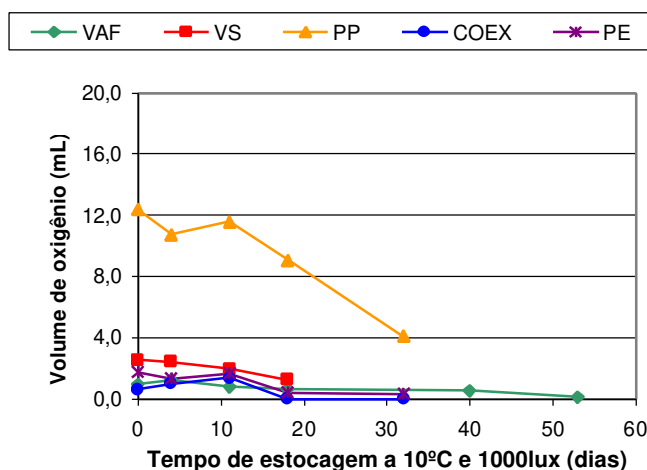


FIGURA 4.12 Volume de oxigênio (mL a 25°C e 0,94atm) no espaço-livre das embalagens de requeijão cremoso ao longo da estocagem sob 1000lux e 10°C - 3º Processamento.

A rápida redução do teor de oxigênio disponível do espaço-livre, ocorreu provavelmente devido ao seu consumo em reações de oxidação e/ou dissolução, sendo fortemente acelerada pela presença de luz, comparativamente ao observado nos dois estudos de estabilidade na ausência de luz (1º e 2º Processamentos) (Figuras 4.3 e 4.4) .

Sob 1000lux e 10°C, as reduções no volume de oxigênio disponível no espaço-livre foi de 0,004mL/g produto no VAF (53 dias de estocagem); 0,010mL/g produto no VS (18 dias de estocagem) e de 0,04mL/g produto no pote PP e 0,007mL/g produto nas bisnagas após 33 dias de estocagem, sendo todos esses volumes quantificados à 25°C e 0,94atm.

Mesmo na bisnaga PE, embalagem de maior taxa de transmissão ao oxigênio, a taxa de consumo do O₂ foi maior que a taxa em que este gás poderia ser repostado por permeação pelas paredes da embalagem.

Assim, observou-se que na presença de luz, vários outros fatores também interferiram na estabilidade do requeijão, como a porcentagem de transmissão de luz do material da embalagem, formato que favoreça ou desfavoreça a exposição do produto à luz (a proximidade das embalagens leva a uma diminuição da intensidade de luz a que cada unidade é exposta), e também a relação área superficial/quantidade de produto acondicionado.

Embora avaliado, não se quantificou gás carbônico no espaço-livre das embalagens, durante o período em estudo.

O teor de N₂ aumentou, contrabalançando as reduções nas porcentagens de oxigênio ao longo da estocagem (variações de 79 a 82% no VAF; 80 a 92% no Pote de PP; 81 a 100% na B. Coex e 78 a 94% na B. PE).

4.4.1.2 Análises periódicas do produto

Análises microbiológicas

As contagens máximas de microrganismos indicadores (mesófilos e psicotróficos) e deteriorantes (esporogênicos aeróbios e anaeróbios e bolores e leveduras) durante a estocagem sob a ação da luz a 10°C do requeijão cremoso, nos cinco tipos de embalagens do 3º Processamento, são apresentadas na Tabela 4.20.

TABELA 4.20 Contagens máximas de microrganismos no requeijão cremoso ao longo da estocagem do 3º Processamento.

Microrganismo	VAF	VS	Pote PP	B. Coex	B.PE
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	$6,3 \times 10^3$	$2,0 \times 10^3$	$2,9 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$	<10
Microrganismos psicrotróficos (UFC/g)	<10	$1,7 \times 10^2$	$8,4 \times 10^2$	<10	<10
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	$3,2 \times 10^3$	$7,5 \times 10^1$	<10	<10	<10
Esporos aeróbios psicrotróficos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	$1,1 \times 10^1$	$2,0 \times 10^3$	4	$3,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^1$
Esporos anaeróbios psicrotróficos (NMP/g)	$1,1 \times 10^1$	<3	<3	<3	<3
Bolores e Leveduras (UFC/g)	$4,0 \times 10^1$	$5,0 \times 10^1$	$6,0 \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$	$7,0 \times 10^1$

VAF (Vidro Abre Fácil); VS (Vidro Selado); Pote PP (Pote Polipropileno); B.Coex (Bisnaga Coextrusada); B.PE (Bisnaga Polietileno)

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

Apesar de ter sido verificado em determinados períodos, contagens de microrganismos em algumas embalagens, durante o período de estocagem a 10°C e 1000lux, não foi observado aumento de microrganismos ao longo do tempo que causasse deterioração do produto.

Análises físico-químicas

Os resultados das análises físico-químicas dos requeijões do Processamento 3 ao longo da estocagem sob 1000lux e 10°C são apresentados na Tabela 4.21.

Os resultados obtidos para as análises físico-químicas do produto estocado sob a ação da luz indicam que, nas condições avaliadas, o produto não apresentou modificações significativas de pH, nitrogênio solúvel e do índice de extensão de proteólise.

Por outro lado, os resultados de índices de TBA (Figura 4.13) não foram conclusivos e pôde-se observar que dos valores obtidos a 532nm, apenas os da bisnaga PE diferiram dos observados no produto das demais embalagem, aos 32 dias de exposição à luz, quando já se verificava diferenciação sensorial entre os produtos das embalagens avaliadas, conforme será apresentado a seguir.

TABELA 4.21 Valores médios de pH, nitrogênio solúvel e índice de extensão de proteólise do requeijão cremoso ao longo da estocagem sob 1000lux a 10°C – 3º Processamento.

Determinação	Resultados	VAF	VS	Pote PP	B. Coex	B. PE
pH	M	5,95	5,97	5,96	5,97	5,95
	IV	5,93- 5,97	5,93-5,99	5,94-6,00	5,95-6,00	5,90-5,99
	CV (%)	0,25	0,58	0,39	0,35	0,66
Nitrogênio solúvel (%)	M	0,12	0,11	0,13	0,11	0,12
	Mínimo	0,10	0,10	0,09	0,08	0,08
	Máximo	0,16	0,11	0,17	0,15	0,18
Índice de extensão de proteólise (%)	M	7,4	6,4	8,0	6,8	7,6
	Mínimo	5,4	5,8	5,1	4,8	5,4
	Máximo	9,2	6,8	10,6	9,5	11,5

Valores referentes a cinco determinações

M – Média; IV - Intervalo de variação; CV - Coeficiente de variação

VAF (Vidro Abre Fácil); VS (Vidro Selado); Pote PP (Pote Polipropileno); B.Coex (Bisnaga Coextrusada); B.PE (Bisnaga Polietileno)

Sendo assim, o acompanhamento da oxidação pelo teste de TBA foi realizado com maior frequência nos estudos de estabilidade subsequentes, com o intuito de estabelecer uma possível correlação entre os valores obtidos na análise química e os resultados da avaliação sensorial.

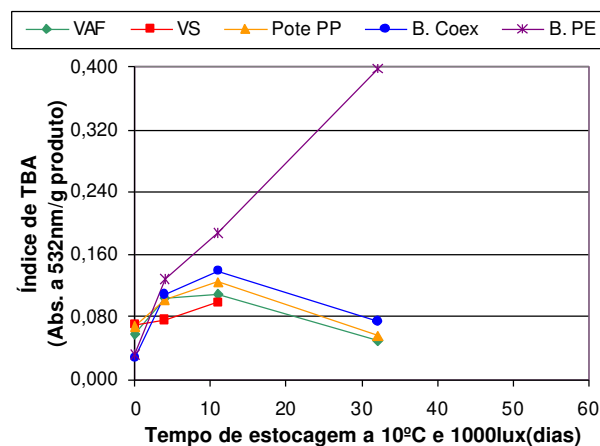


FIGURA 4.13 Variação do índice de TBA a 532nm do requeijão cremoso estocado à 10°C sob 1000lux – 3º Processamento.

É importante ressaltar que o 3º Processamento representa um estudo preliminar do efeito da luz sobre o produto estocado a 10°C, devido ao curto período de tempo em que o produto pode ser avaliado devido à rápida deterioração do mesmo. Desta forma, estes resultados foram utilizados para orientar os estudos da etapa final desse projeto de tese.

Análises sensoriais

Não foram observadas diferenças significativas no requeijão cremoso das diferentes embalagens ao longo da estocagem sob 1000lux e 10°C, quanto aos atributos de cor, gosto ácido e gosto amargo.

Entretanto, perda de odor e de sabor característicos, desenvolvimento de sabor de ranço e perda de qualidade global ocorreram mais rápida e acentuadamente nos três tipos de embalagens plásticas que no copo VAF (Figura 4.14).

A 1000lux, o requeijão cremoso da bisnaga PE ultrapassou o limite de qualidade aceitável pelos provadores (qualidade global = 4,5) aos 4 dias de estocagem, entre 4 e 11 dias no pote de PP e entre 11 e 18 dias na Bisnaga Coex e no VS. No VAF a durabilidade foi maior, entre 40 e 53 dias. Vale ressaltar que esses resultados são apenas indicativos, uma vez que anteriormente os produtos foram mantidos por 30 dias no escuro a 10°C. Porém, como observado nos Processamentos 1 e 2, nesse período de estocagem no escuro o produto não apresentou nenhum processo de deterioração, o que permitiu sua utilização como zero dia na luz.

De maneira geral, a deterioração do requeijão ocorreu mais rapidamente e de maneira mais significativa na bisnaga PE. A incorporação de barreira ao oxigênio no material da embalagem (Bisnaga Coex) retardou a deterioração do produto levando a um ganho de uma semana, aproximadamente, na sua vida útil.

A durabilidade do produto na bisnaga Coex foi similar à do requeijão no pote de PP, indicando que fatores como maior área superficial exposta à luz por quantidade de produto da bisnaga Coex contrabalançaram com a quantidade de oxigênio disponível no espaço-livre e maiores transmissão ao oxigênio e luz do pote de PP.

A maior durabilidade do produto no copo VAF quando comparado ao pote de PP se deve à menor quantidade de oxigênio disponível no espaço-livre por quantidade de produto (VAF = 0,004mL/g e pote de PP = 0,058mL/g) e à não reposição de oxigênio por permeação no copo VAF, embora o pote de PP apresentasse de favorável uma menor relação área superficial de exposição da embalagem por quantidade de produto (VAF = 93mm²/g produto e pote de PP = 66mm²/g produto).

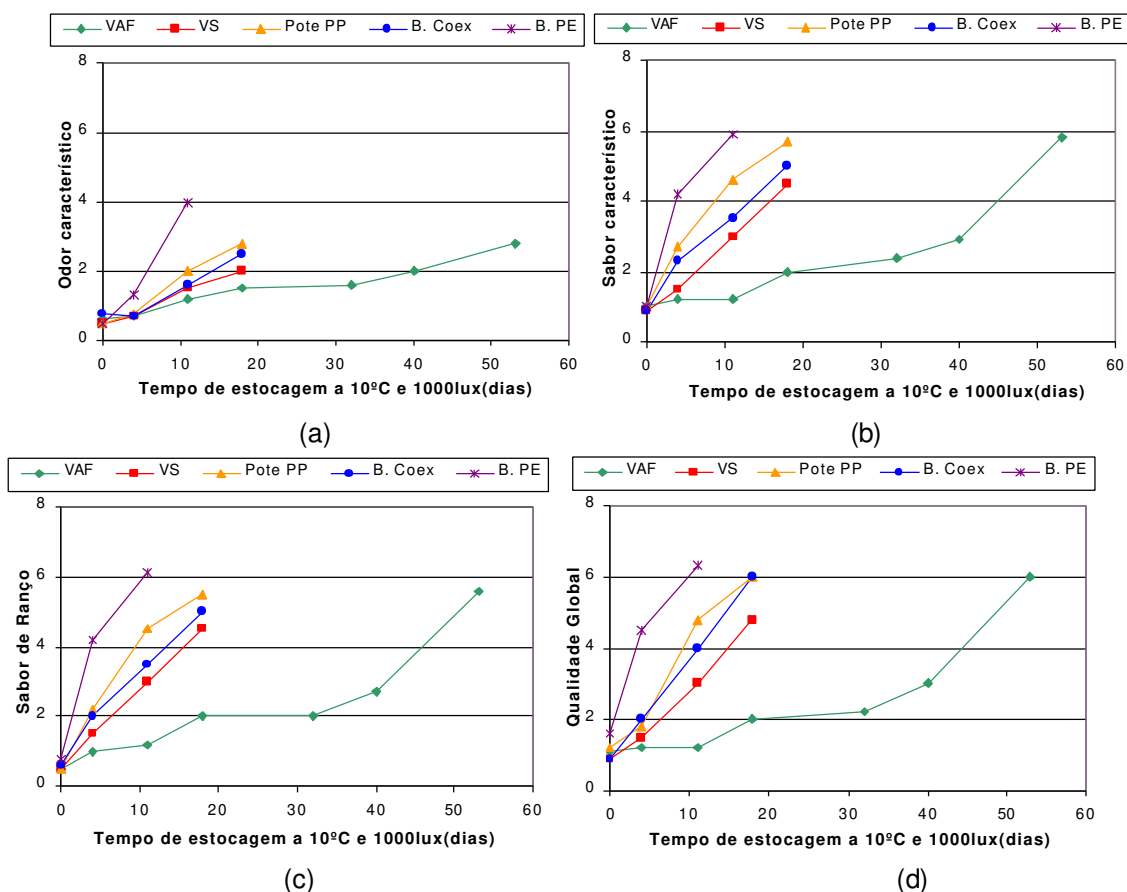


FIGURA 4.14 Perda de (a) odor e (b) sabor característicos, (c) desenvolvimento de ranço e (d) perda de qualidade global do requeijão cremoso ao longo da estocagem sob 1000lux a 10°C - 3º Processamento.

Ao se comparar a durabilidade do requeijão no copo VAF e na bisnaga Coex, verifica-se que o que deve favorecer a durabilidade no VAF também deve ser a menor dissolução de oxigênio no produto devido à menor pressão parcial de oxigênio no espaço-livre (Lei de Henry), uma vez que a quantidade de oxigênio disponível no espaço-livre por quantidade de produto era da mesma ordem de grandeza nessas duas embalagens (VAF = 0,004mL/g e bisnaga Coex = 0,007mL/g). Outro fator a considerar consiste na menor área superficial de exposição à luz do copo VAF devido seu formato, além da maior proximidade das B. Coex na prateleira. Para tentar esclarecer essas dúvidas, uma das possibilidades pesquisada foi a exposição do copo VAF invertido nas prateleiras durante a exposição à luz.

4.4.1.3 Conclusões preliminares – Estudo da estabilidade do produto sob exposição à luz

Portanto, os resultados obtidos com requeijão cremoso a 10°C, quando as embalagens foram expostas à luz (1000lux), serviram de base para o delineamento dos ensaios para a continuidade do estudo, selecionando ensaios que melhor avaliassem a estabilidade do produto, de modo que estes fossem em menor número e pudessem ser realizados com menor periodicidade para melhor acompanhamento da rápida deterioração do produto.

4.4.2 Estudos completos

4.4.2.1 Análises periódicas das embalagens

Peso líquido e vácuo

Na Tabela 4.22 são apresentados os resultados de peso líquido de requeijão cremoso por tipo de embalagem avaliada no 4º e 5º Processamentos, em presença e ausência de luz.

Para o copo VAF e o pote PP, o peso líquido médio de produto foi ao redor de 250g de requeijão. Nas bisnagas plásticas o peso líquido médio foi ao redor de 185g e no copo VS ao redor de 182g de requeijão cremoso, este último avaliado apenas no 4º Processamento, em virtude de problemas mecânicos no equipamento de fechamento deste copo.

Embora o acondicionamento do produto nas embalagens tenha sido efetuado utilizando-se a dosadora e envasadora semi-automática, o peso líquido médio de produto por embalagem oscilou entre 0,9 e 2,6% (4º Processamento) e 1,5 e 2,7% (5º Processamento). A variação de peso líquido máxima da ordem de 3% observada nos dois últimos processamentos, foi devido ao universo de embalagens com diferentes capacidades avaliadas, sendo que a cada batelada de requeijão cremoso produzido, procedia-se ao acondicionamento do produto em todas as embalagens. Este procedimento, portanto, exigiu constantes ajustes na envasadora para o acondicionamento do produto na capacidade adequada para cada tipo de embalagem.

Os níveis de vácuo dos copos VAF do 4º Processamento, apresentados na Tabela 4.23 (valores de 16,0 a 18,0polHg), indicaram que em algumas unidades o vácuo era inferior ao valor médio recomendado pela empresa fabricante da tampa, que é de 18 a 20pol Hg. No 5º Processamento os valores individuais de vácuo medidos oscilaram entre 17,5 e 18,0pol Hg.

TABELA 4.22 Peso líquido de requeijão nas embalagens do 4º e 5º Processamentos.

Processa- mento	Embalagem									
	VAF		VS		Pote PP		B. Coex		B.PE	
	1000lux	Escuro	1000lux	Escuro	1000lux	Escuro	1000lux	Escuro	1000lux	Escuro
M (g)	248,2	248,9	183,2	182,1	250,0	249,8	184,7	185,3	186,0	186,4
4º IV (g)	230,0-254,4	237,8-260,9	173,0-188,8	173,9-187,9	240,7-258,1	244,6-255,2	176,6-190,6	175,2-193,7	180,1-194,3	177,7-196,4
CV (%)	1,5	1,4	1,6	1,6	1,3	0,9	2,2	2,5	1,7	2,6
M (g)	248,3	248,2	-	-	253,1	253,0	186,4	186,6	-	-
5º IV (g)	240,8-259,2	238,6-261,0	-	-	235,0-267,6	242,6-273,6	181,9-195,5	181,0-195,5	-	-
CV (%)	1,6	2,1	-	-	2,7	2,7	1,5	1,7	-	-

Valores referentes a cinquenta e quatro e sessenta determinações, respectivamente para o 4º e 5º Processamentos

M – Média; IV - Intervalo de variação; CV - Coeficiente de variação

VAF(Vidro Abre Fácil); VS (Vidro Selado); Pote PP (Pote Polipropileno); B.Coex (Bisnaga Coextrusada); B.PE (Bisnaga Polietileno)

TABELA 4.23 Vácuo nos copos VAF ao longo da estocagem do 4º e 5º Processamentos a 10°C sob 1000lux e no escuro.

Processamento	Resultados	Vácuo (pol Hg)	
		1000lux	Escuro
4º	M	17,0	17,5
	IV	16,0 – 18,0	16,0 – 18,0
	CV (%)	4,5	3,4
5º	M	18,0	18,0
	IV	17,5 – 18,0	17,5 – 18,0
	CV (%)	1,5	1,6

Valores referentes a vinte e uma e trinta determinações, respectivamente ao 4º e 5º

Processamentos

M – média, IV - Intervalo de variação; CV – coeficiente de variação

VAF (Vidro Abre Fácil)

Fator de conversão para Sistema Internacional: 1pol Hg = 3,386 x 10³Pa

A quantidade de vapor injetada na terminação do VAF afeta o volume inicial de gases do espaço-livre e o nível de vácuo formado. O nível de vácuo é importante para fixação da tampa no copo e manutenção da hermeticidade do sistema de fechamento. Além disso, quanto maior o nível de vácuo, menor é a pressão parcial de oxigênio no espaço-livre e, conseqüentemente, menor é a dissolução de oxigênio no produto, conforme a Lei de Henry (HERNANDEZ et al., 2000b). Assim, o volume inicial e a pressão parcial de oxigênio do espaço-livre dos copos VAF interferem diretamente na disponibilidade de oxigênio dissolvido no produto que pode vir a ser consumido em reações de oxidação.

Nas outras embalagens rígidas (copo de vidro selado e pote de PP), devido ao enchimento a quente do produto, ocorreu uma certa formação de vácuo que era parcialmente compensada pelo abaulamento do selo de alumínio. Nas bisnagas não ocorre formação de vácuo devido ao colapso das paredes flexíveis da embalagem, equilibrando as pressões interna e externamente à embalagem, conforme comentado anteriormente (item 4.3.1.1).

Volume e composição gasosa do espaço-livre

Variações de peso líquido, além de outros fatores como processo descontínuo de fusão do requeijão por batelada (cerca de 20kg/batelada), aliados ao transporte manual das embalagens até as máquinas de fechamento e o fechamento semi-automático

levaram a variações na temperatura de enchimento e consequentemente a variações no volume inicial de gases do espaço-livre.

Na Figura 4.15 são apresentados os resultados de volume total de gases do espaço-livre nas embalagens de requeijão, quantificados ao longo da estocagem a 10°C sob 1000lux e na ausência de luz.

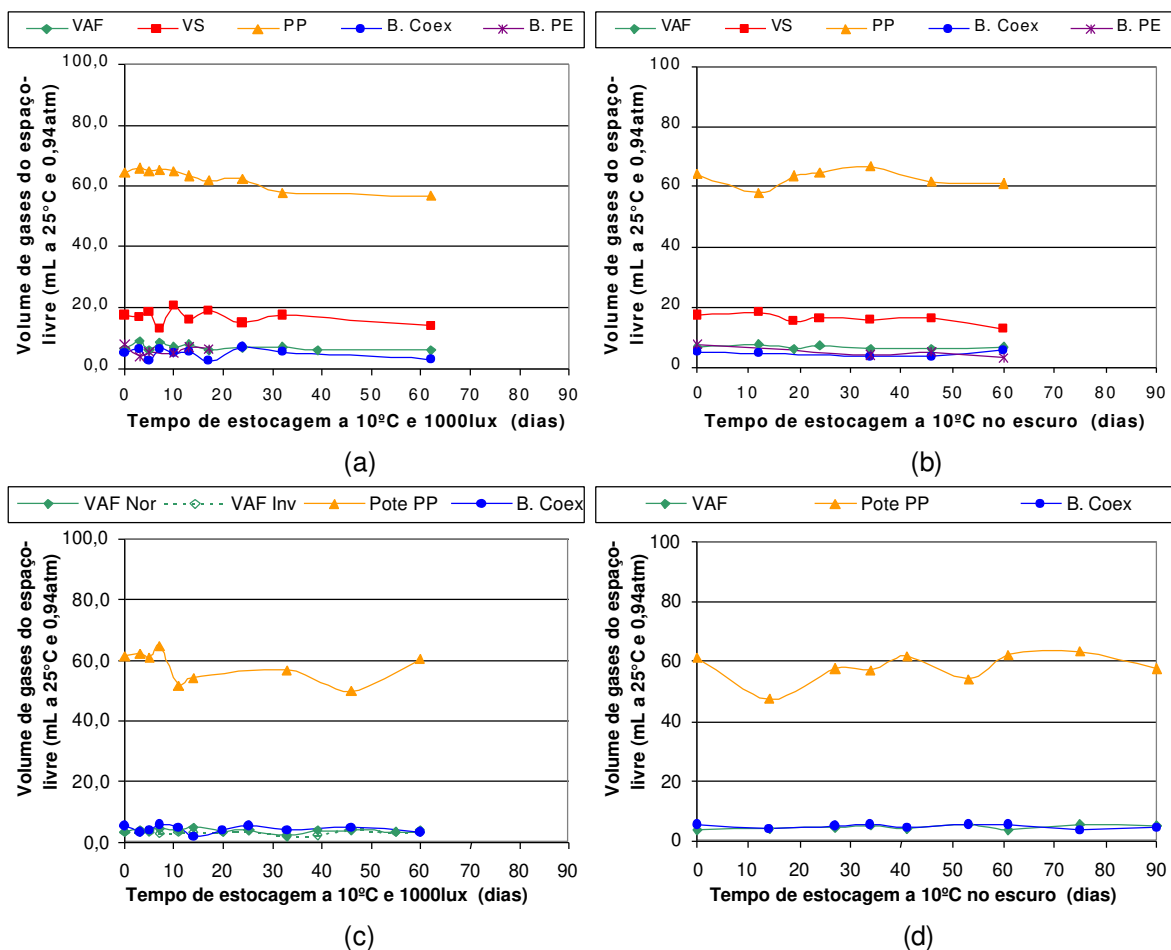


FIGURA 4.15 Volume do espaço-livre das embalagens de requeijão cremoso estocadas (a) sob 1000lux e (b) no escuro - 4º Processamento e (c) sob 1000lux e (d) no escuro - 5º Processamento.

O volume total de gases do espaço-livre do copo VAF foi menor nas embalagens testadas no 5º Processamento (valor médio de 4mL e variações de 2 a 7mL, a 25°C e 0,94atm) em comparação às mesmas embalagens avaliadas no 4º Processamento (valor

médio de 7mL e variações de 4 a 10mL, a 25°C e 0,94atm) e, próximo ao do 3º Processamento (valor médio de 5mL a 25°C e 0,94atm).

O VS (4º Processamento) teve os valores médios de volume total de gases do espaço-livre variando entre 15 a 20mL a 25°C e 0,94atm como nos processamentos anteriores onde esta embalagem foi avaliada (1º ao 3º Processamento).

Embora o volume de gases dos potes de PP fosse em média um pouco maior no 4º Processamento (Valor médio de 63mL a 25°C e 0,94atm) do que no 5º Processamento (Valor médio de 58mL a 25°C e 0,94atm), variou na mesma faixa (cerca de 50 a 70mL a 25°C e 0,94atm) nos dois processamentos.

Nos dois últimos processamentos, os volumes médios das bisnagas foram semelhantes entre si (valor médio de 5mL e variações de 2 a 10mL, a 25°C e 0,94atm) e ao observado no 3º Processamento, mas inferiores aos quantificados principalmente no 1º Processamento, porque foi aumentada de 180g para 185g a quantidade de requeijão acondicionada nesta embalagem.

Dependendo do volume de gases do espaço-livre, maior ou menor é a quantidade de oxigênio disponível para as reações de oxidação da gordura do requeijão cremoso.

Assim, a partir do volume inicial médio de gases do espaço-livre da estocagem para cada tipo de embalagem e, considerando que inicialmente este volume continha 21% de oxigênio, calculou-se a disponibilidade inicial de oxigênio nas embalagens, bem como a quantidade inicial de oxigênio por quantidade de produto, conforme dados apresentados na Tabela 4.24.

TABELA 4.24 Quantidade de oxigênio no espaço-livre das embalagens no início da estocagem do 4º e 5º Processamentos.

Embalagem	Processamento	Volume de gases do espaço-livre (mL*)	Volume de oxigênio do espaço-livre (mL*)	Peso líquido (g)	mL* de O ₂ / g de produto
VAF	4º	7	1,5	249	0,006
	5º	4	0,8	248	0,003
VS	4º	17	3,6	183	0,020
Pote PP	4º	63	13,2	250	0,053
	5º	58	12,2	253	0,048
B. Coex B. PE	4º	5	1,1	186	0,006
B. Coex	5º	5	1,1	186	0,006

* mL a 25°C e 0,94atm

Desta forma, no 4º Processamento a quantidade de oxigênio disponível no espaço-livre por quantidade de produto do pote de PP era aproximadamente 2,5 vezes maior que no copo VS e 9 vezes maior que nas bisnagas plásticas e no VAF.

No 5º Processamento a quantidade de oxigênio disponível no espaço-livre por quantidade de produto foi reduzida aproximadamente pela metade no VAF, porque alterou-se as condições de injeção de vapor na máquina de fechamento.

O acompanhamento do teor de oxigênio no espaço-livre das embalagens de requeijão cremoso ao longo da estocagem é apresentado na Figura 4.16.

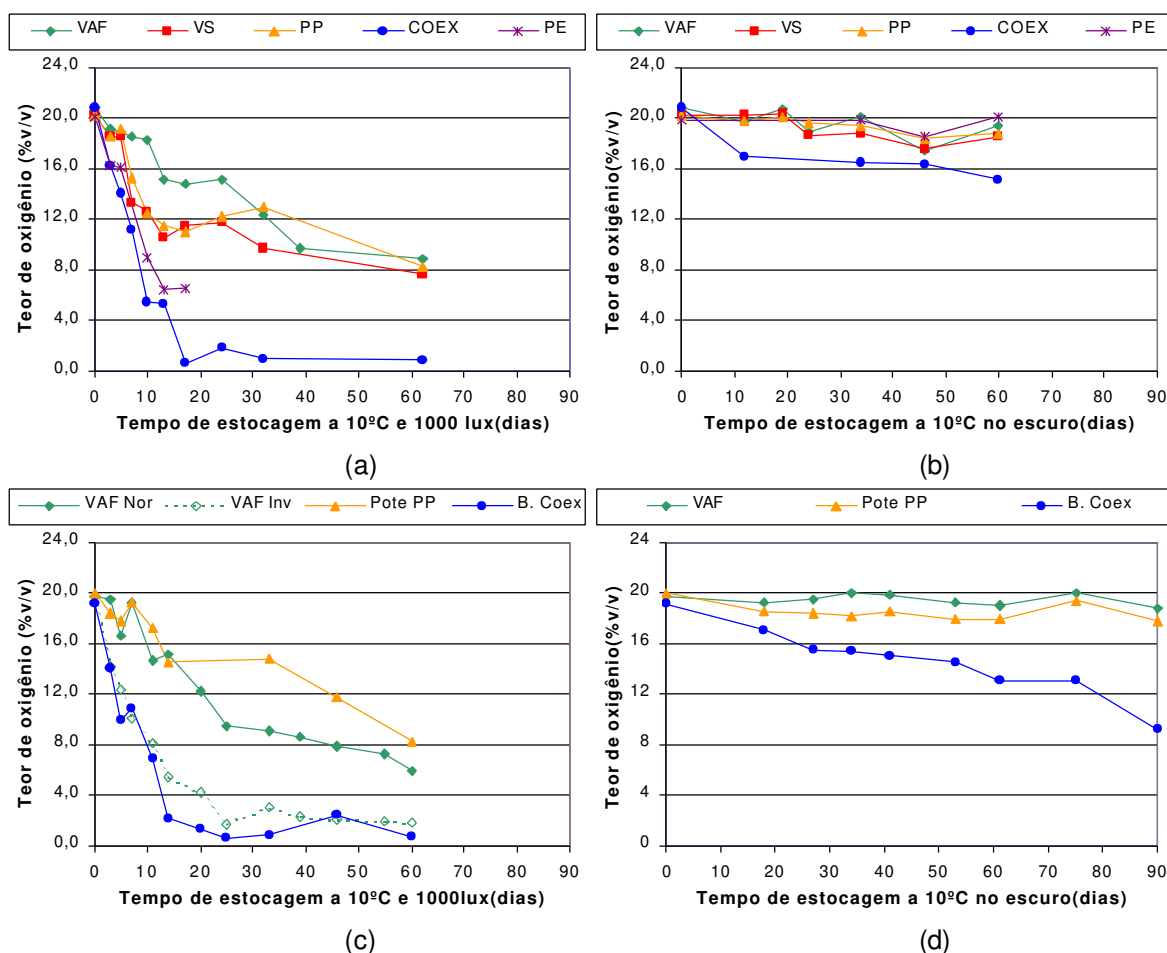


FIGURA 4.16 Teor de oxigênio no espaço-livre das embalagens de requeijão cremoso ao longo da estocagem (a) sob 1000lux e (b) no escuro - 4º Processamento e (c) sob 1000lux e (d) no escuro - 5º Processamento.

A concentração de 21% de oxigênio no espaço-livre das embalagens apresentou uma redução maior ao longo da estocagem sob luz do que as observadas nas mesmas embalagens mantidas no escuro. Sob a ação da luz, observou-se redução significativa do teor de oxigênio do espaço-livre com o transcorrer do tempo de estocagem ($p < 0,05$), diferenciada por tipo de embalagem ($p < 0,05$), e deve ter ocorrido devido ao consumo do oxigênio em reações de foto-oxidação, o que levou à rápida alteração sensorial do produto como discutido a seguir.

No copo VAF, quando exposto à luz na posição normal, após 60 dias de estocagem, fo teor de oxigênio caiu para 9% e 6% no 4º e 5º Processamentos, respectivamente, enquanto no escuro manteve-se ao redor de 20%. Vale lembrar que o copo VAF do 5º Processamento apresentava menor volume de gases no espaço-livre que o do 4º

Processamento, além de maior vácuo (menor pressão total e menor pressão parcial de oxigênio), com menor tendência de dissolução de oxigênio no produto, o que resultou em uma redução da velocidade das reações de foto-oxidação, com maior preservação das características sensoriais no produto, conforme discutido a seguir quando da apresentação dos resultados das avaliações sensoriais.

Entretanto, quando o VAF foi exposto na posição invertida (5º Processamento), o teor de oxigênio no espaço-livre aos 60 dias foi da ordem de 2%. Como não se observou diferença em relação à qualidade sensorial do produto com o copo nas duas posições, provavelmente o menor teor de oxigênio no volume de gases do espaço-livre no copo invertido deve-se à dissolução desse gás no produto no momento da inversão do copo para abertura da embalagem, coleta dos gases para análise cromatográfica.

No pote de PP, em ambos os processamentos, e no copo VS do 4º Processamento, o teor de oxigênio chegou a 8% após 60 dias sob 1000lux, enquanto no escuro este teor ficou em 18%. Na bisnaga Coex, o teor de oxigênio foi reduzido a 1% após 60 dias sob 1000lux, enquanto no escuro atingiu 15% aos 60 dias e 9% aos 90 dias do 5º Processamento.

Mesmo na bisnaga de PE (4º Processamento), embalagem de maior taxa de transmissão de oxigênio, a taxa de consumo do O_2 foi maior que a taxa em que este gás poderia ser repostado por permeação pelas paredes da embalagem, uma vez que o teor de oxigênio no espaço-livre reduziu-se para cerca de 7% em 17 dias sob 1000lux.

Quando foram avaliados o volume e o teor de oxigênio do espaço-livre das embalagens, calculou-se também o volume de oxigênio (mL a 25°C e 0,94atm) presente no espaço-livre das embalagens ao longo da estocagem do 4º 5º Processamentos, e os resultados são apresentados na Figura 4.17.

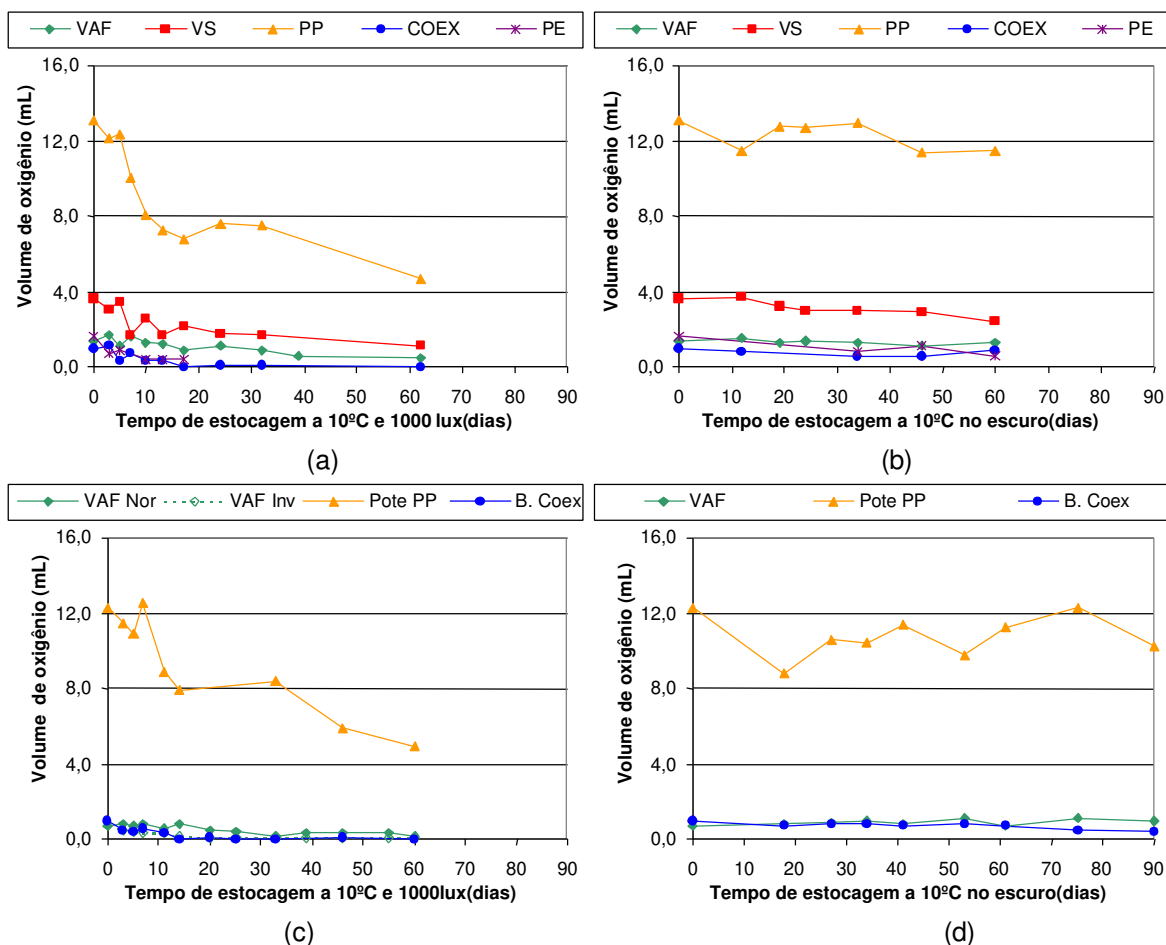


FIGURA 4.17 Volume de oxigênio (mL a 25°C e 0,94atm) no espaço-livre das embalagens de requeijão cremoso ao longo da estocagem (a) sob 1000lux e (b) no escuro - 4º Processamento e (c) sob 1000lux e (d) no escuro - 5º Processamento.

Durante a estocagem no escuro (Figura 4.17 b, d) observou-se que o volume de oxigênio do espaço-livre se manteve no VAF e no pote PP, e uma pequena redução nas bisnagas Coex e PE e VS.

No VAF, confirmou-se os resultados apresentados anteriormente de que não há consumo de oxigênio em reações de oxidação ou dissolução deste gás no produto, neste sistema de embalagem quando a estocagem é no escuro. Pelo contrário, no VS, observou-se uma redução de 0,006mL de O_2 (a 25°C e 0,94atm)/g produto durante os 60 dias de estocagem a 10°C no escuro, sendo o menor volume de gases e a menor pressão parcial de oxigênio no espaço-livre do VAF, resultante da injeção de vapor antes do fechamento, o grande diferencial entre essas duas embalagens de vidro.

No pote PP, o maior volume de oxigênio do espaço-livre, aliado à maior taxa de transmissão de oxigênio desta embalagem, faz com que, se o oxigênio for consumido em reações de oxidação ou solubilizado no produto, isto não se reflita em redução no volume de oxigênio no espaço-livre. O mesmo não ocorre nas bisnagas, tendo sido quantificada uma redução de 0,003mL de O₂ (a 25°C e 0,94atm)/g produto na B. Coex ao longo da estocagem no escuro do 5º Processamento, devido ao menor volume de espaço-livre e menor TPO₂ desta embalagem; e de 0,005mL de O₂ (a 25°C e 0,94atm) /g produto na B. PE (4º Processamento), devido a esta ser a embalagem mais permeável ao oxigênio entre todas avaliadas.

Verificou-se durante os 60 e 90 dias de estocagem no escuro, respectivamente do 4º e 5º Processamentos, teores de oxigênio no espaço-livre semelhantes aos observados para as mesmas embalagens avaliadas no 1º e 2º Processamentos, para os mesmos períodos de estocagem.

Mas sob 1000lux, a redução no volume de oxigênio do espaço-livre ocorreu em todos os tipos de embalagem avaliados e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.25.

TABELA 4.25 Redução do volume de oxigênio disponível no espaço-livre das embalagens ao longo da estocagem do 4º e 5º Processamentos.

Embalagem	Processamento	Volume O ₂ do espaço-livre no início da estocagem (mL*)	Volume O ₂ do espaço-livre no final da estocagem** (mL*)	Peso líquido (g)	Redução de O ₂ /quantidade de produto (mL*/g)
VAF	4º	1,5	0,5	249	0,004
	5º	0,8	0,2	248	0,002
VS	4º	3,6	1,1	183	0,014
Pote PP	4º	13,2	4,7	250	0,034
	5º	12,2	4,9	253	0,029
B. Coex	4º	1,1	0	186	0,006
B. PE					
B. Coex	5º	1,1	0	186	0,006

*mL a 25°C e 0,94atm

** 60 dias exceto B. PE que foi aos 17 dias de estocagem

Verificou-se o dobro de redução do oxigênio disponível no espaço-livre do VAF do 4º Processamento, comparativamente ao observado no VAF do 5º Processamento; e redução 3,3 vezes maior no VS, comparativamente ao VAF do 4º Processamento, o que influenciou na vida útil do requeijão nestas embalagens como será discutido nas análises sensoriais (Tabela 4.25). Vale lembrar que a redução do oxigênio do espaço-livre pode ser por consumo ou dissolução desse gás no produto. Também não era esperada a

entrada de oxigênio pelo sistema de fechamento, devido à excelente característica de barreira das embalagens de vidro desse estudo (Tabela 4.4).

Nas embalagens plásticas, além dos fatores discutidos, há entrada de oxigênio por permeação, o que impede a comparação direta desses resultados de redução de volume de oxigênio disponível do espaço-livre, a exemplo da redução verificada no pote de PP que foi cinco vezes maior que na B. PE, embora a vida útil do requeijão na B. PE ter sido menor nesta embalagem, conforme será apresentado nas análises sensoriais.

Assim confirmou-se que o volume de oxigênio disponível no espaço-livre das embalagens ao longo da estocagem no escuro depende de fatores como taxa de transmissão ao oxigênio da embalagem, volume e pressão parcial de oxigênio no espaço-livre da embalagem, dissolução no produto e consumo de oxigênio em reações de auto-oxidação. Entretanto, o teor de oxigênio é muito reduzido quando da estocagem sob luz, quando somam-se fatores como barreira a luz do material da embalagem, relação área superficial de exposição da embalagem à luz/quantidade de produto acondicionado e maior velocidade das reações de foto-oxidação do produto.

As relações aproximadas da área superficial de exposição à luz da embalagem/quantidade de produto dos sistemas de embalagem do estudo eram:

VAF (posição normal) e VS – 93mm²/g produto

VAF – invertido - 102mm²/g produto

Pote PP – 66mm²/g produto

Bisnagas Coex e PE - 117mm²/g produto

Assim, devido ao formato da embalagem, a maior área de exposição do produto à luz ocorre nas bisnagas, seguido dos copos de vidro (principalmente VAF – posição invertida). O formato do pote (maior diâmetro e menor altura) leva a uma menor área de exposição do produto à luz.

Também é importante salientar que, nas embalagens plásticas, o contato do produto com o oxigênio ocorre em toda a área de embalagem, devido à permeação do oxigênio pelo material plástico, que pode ser maior ou menor dependendo da sua taxa de transmissão ao oxigênio, enquanto que nos copos de vidro (VAF e VS) o contato do produto com o oxigênio se restringe à área em contato com o espaço-livre.

Embora avaliado, não se quantificou gás carbônico no espaço-livre das embalagens durante o período em estudo no escuro e sob luz. Os teores de N_2 oscilaram nas embalagens contrabalançando as oscilações nas porcentagens de oxigênio ao longo da estocagem.

Na literatura, o acompanhamento da porcentagem de oxigênio presente no espaço-livre para queijos sob ação da luz foi realizado apenas para queijos Havarti (MORTENSEN et al., 2002a; 2002b; 2003c; KRISTENSEN et al., 2000), que foram acondicionados sob atmosfera modificada com teor inicial de oxigênio de no máximo 1,5%, sendo que este teor foi praticamente zerado após 20 dias de estocagem a 4 -7°C sob 1000 - 1300lux.

4.4.2.2 Análises periódicas do produto

Análises microbiológicas

Os resultados das contagens de microrganismos indicadores (mesófilos e psicrotróficos) e deteriorantes (esporogênicos aeróbios e anaeróbios mesófilos e bolores e leveduras) durante a estocagem na luz e no escuro a 10°C das amostras de requeijão nos diferentes tipos de embalagens do 4º e 5º Processamentos são apresentados nos Anexos 11 a 19. Uma compilação das contagens máximas observadas é apresentada na Tabela 4.26.

Observa-se pelos resultados apresentados nos Anexos 11 a 19 e na Tabela 4.26, contagens pequenas e esporádicas de microrganismos mesófilos (máximo de $4,4 \times 10^4$ UFC/g), psicrotróficos (máximo de $5,6 \times 10^3$ UFC/g), esporogênicos aeróbios mesófilos (máximo de $3,2 \times 10^3$ UFC/g) e bolores e leveduras (máximo de $1,6 \times 10^4$ UFC/g), independentemente do tipo de embalagem e da condição de estocagem (luz e escuro) e não se observou aumento ao longo da estocagem das embalagens.

Os ensaios microbiológicos foram mantidos, embora não tenha sido detectado problema nos processamentos anteriores, para ter um histórico de um produto nacional onde as informações disponíveis são poucas. De qualquer forma, como as contagens, quando houveram, foram da mesma ordem de grandeza das observadas no produto mantido no escuro, evidenciam que não ocorreu nenhum desenvolvimento microbiano que resultasse em diminuição da qualidade do requeijão cremoso em estudo, garantindo que as alterações de sabor não foram oriundas de desenvolvimento microbiano.

TABELA 4.26 Contagens máximas de microrganismos no requeijão cremoso ao longo da estocagem do 4º e 5º Processamento.

Ensaio	Proc.	VAF Normal		VAF Inv	VS		Pote PP		B. Coex		B.PE	
		Luz	Escuro	Luz	Luz	Escuro	Luz	Escuro	Luz	Escuro	Luz	Escuro
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	4º	6,7x10 ³	1,9x10 ³	-	3,4x10 ⁴	4,0x10 ⁴	3,5x10 ⁴	4,0x10 ¹	2,0x10 ¹	1,2x10 ²	3,0x10 ¹	7,5x10 ¹
	5º	3,0x10 ¹	2,0x10 ¹	2,0x10 ¹	-	-	1,6x10 ²	1,0x10 ²	1,0x10 ¹	1,0x10 ²	-	-
Microrganismos psicrotróficos (UFC/g)	4º	5,6x10 ³	<10	-	5,4x10 ³	5,3x10 ³	4,0x10 ⁴	3,0x10 ¹	<10	6,4x10 ²	<10	<10
	5º	<10	<10	<10	-	-	<10	2,0x10 ¹	<10	<10	-	-
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	4º	7,0x10 ¹	1,0x10 ³	-	2,2x10 ¹	3,9x10 ²	8,6x10 ²	1,2x10 ³	5,0x10 ²	3,2x10 ³	5,1x10 ²	1,2x10 ²
	5º	5,5x10 ²	3,0x10 ¹	4,0x10 ¹	-	-	<10	1,0x10 ²	3,7x10 ²	3,0x10 ¹	-	-
Esporos aeróbios psicrotróficos (UFC/g)	4º	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	5º	<10	<10	<10	-	-	<10	<10	<10	<10	-	-
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	4º	<3	<3	-	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
	5º	<3	<3	<3	-	-	<3	<3	<3	<3	-	-
Esporos anaeróbios psicrotróficos (NMP/g)	4º	<3	<3	-	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
	5º	<3	<3	<3	-	-	<3	<3	<3	<3	-	-
Bolores e Leveduras (UFC/g)	4º	1,0x10 ¹	1,2x10 ²	-	2,0x10 ¹	1,3x10 ²	<10	1,0x10 ¹	3,0x10 ¹	<10	1,0x10 ¹	<10
	5º	<10	1,1x10 ³	2,8x10 ²	-	-	<10	4,0x10 ¹	1,6x10 ⁴	<10	-	-

VAF(Vidro Abre Fácil); VS (Vidro Selado); Pote PP (Pote Polipropileno); B.Coex (Bisnaga Coextrusada); B.PE (Bisnaga Polietileno)

Análises físico-químicas

Os resultados das análises físico-químicas (pH, nitrogênio solúvel e índice de extensão de proteólise) do requeijão acondicionado nas diversas embalagens do 4^o e 5^o Processamentos ao longo da estocagem a 10°C sob ação da luz e no escuro são apresentados nas Tabela 4.27.

Os valores de pH do requeijão oscilam praticamente dentro de uma mesma faixa de valores, tanto sob incidência de 1000lux (pH entre 5,65 a 5,82) quanto no escuro (pH entre 5,59 a 5,83), para todas as embalagens avaliadas, semelhante ao observado nos produtos dos processamentos anteriores. Estes valores são considerados normais para requeijão produzido por acidificação direta a quente conforme discutido anteriormente no item 4.3.2.2. É importante fazer o monitoramento do pH para garantir o controle microbiológico do produto.

O índice de extensão de proteólise do requeijão cremoso (Tabela 4.27) oscilou entre 3,1 a 9,4%, devido ao fato do nitrogênio solúvel e do nitrogênio total não apresentarem variações ao longo da estocagem, ou seja, não ocorreram alterações na estrutura das proteínas do produto nas condições deste estudo. Este fato era esperado principalmente em função das condições de processo do requeijão cremoso, que lhe confere estabilidade microbiológica, como é o caso das altas temperaturas usadas na precipitação do leite e na fusão da massa e a estocagem ter sido a 10°C.

Nas Figuras 4.18 (a,b,c,d) são apresentados os resultados de índice de TBA quantificados a 532nm no requeijão acondicionado nas diversas embalagens do 4^o e 5^o Processamentos, ao longo da estocagem a 10°C sob ação da luz e no escuro.

TABELA 4.27 Valores médios de pH, nitrogênio solúvel e índice de extensão de proteólise do requeijão cremoso ao longo da estocagem do 4º e 5º Processamentos.

Ensaio	Processamento/ Resultados	VAF		VS (4ºP) / VAF inv (5ºP)		Pote PP		B. Coex		B.PE		
		1000lux	Escuro	1000lux	Escuro	1000lux	Escuro	1000lux	Escuro	1000lux	Escuro	
pH	4º	M	5,75	5,75	5,75	5,74	5,75	5,74	5,74	5,73	5,75	5,71
		IV	5,65-5,80	5,62-5,83	5,66-5,80	5,59-5,82	5,67-5,82	5,63-5,80	5,66-5,80	5,61-5,80	5,66-5,77	5,59-5,79
		CV (%)	0,69	1,24	0,79	1,42	0,71	1,05	0,77	1,31	0,74	1,85
	5º	M	5,80	5,80	5,81	-	5,80	5,82	5,81	5,82	-	-
		IV	5,74-5,85	5,74-5,93	5,74-5,90	-	5,71-5,87	5,75-5,91	5,72-5,92	5,76-5,94	-	-
		CV (%)	0,71	0,98	0,89	-	1,03	0,98	1,09	1,08	-	-
Nitrogênio solúvel (%)	4º	M	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,08	0,09	0,06	0,10	0,09
		Mínimo	0,08	0,08	0,06	0,07	0,07	0,07	0,08	0,05	0,08	0,07
		Máximo	0,11	0,10	0,11	0,11	0,10	0,11	0,11	0,07	0,15	0,10
	5º	M	0,08	0,08	0,09	-	0,08	0,08	0,09	0,09	-	-
		Mínimo	0,07	0,06	0,07	-	0,07	0,06	0,07	0,06	-	-
		Máximo	0,10	0,10	0,10	-	0,09	0,10	0,10	0,12	-	-
Índice de extensão da proteólise (%)	4º	M	5,3	5,7	5,2	5,5	5,1	4,7	5,5	3,5	5,9	5,9
		Mínimo	4,6	4,7	3,8	4,2	4,3	3,8	4,4	3,1	4,6	4,3
		Máximo	6,5	6,4	6,7	6,4	6,1	6,4	6,2	3,7	9,4	7,6
	5º	M	4,3	4,7	4,6	-	4,6	4,7	4,6	4,8	-	-
		Mínimo	3,6	3,4	3,8	-	3,9	3,4	3,8	3,1	-	-
		Máximo	5,0	5,5	5,5	-	5,4	5,6	5,8	6,7	-	-

Valores referentes a dez determinações

M – Média; IV - Intervalo de variação; CV - Coeficiente de variação

VAF(Vidro Abre Fácil); VS (Vidro Selado); Pote PP (Pote Polipropileno); B.Coex (Bisnaga Coextrusada); B.PE (Bisnaga Polietileno)

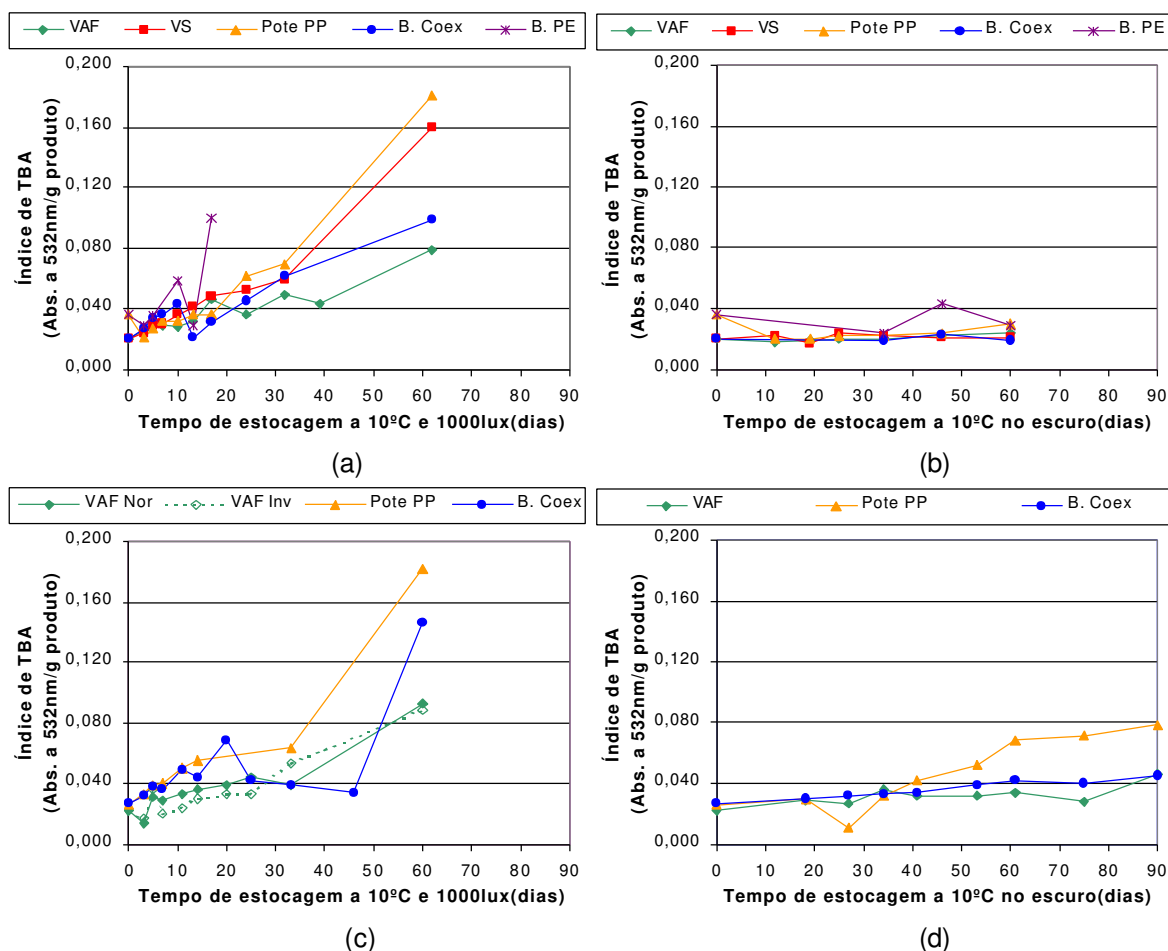


FIGURA 4.18 Variação do índice de TBA a 532nm do requeijão cremoso estocado (a) sob 1000lux e (b) no escuro - 4º Processamento e (c) sob 1000lux e (d) no escuro - 5º Processamento.

Os valores de índice de TBA dos produtos estocados sob 1000lux (Figuras 4.18a e 4.18c) indicaram um efeito significativo ($p < 0,05$) do tempo de estocagem e do tipo de embalagem. Assim, ao longo da estocagem sob 1000lux, verificou-se maior formação de produtos secundários de oxidação principalmente na bisnaga PE (0,10Abs. a 532nm/g amostra aos 17dias) e no pote de PP (0,18Abs. a 532nm/g amostra aos 60 dias), seguidos do VS (0,16Abs. a 532nm/g amostra aos 60 dias) e da bisnaga Coex (0,10-0,15Abs. a 532nm/g amostra aos 60 dias). No VAF, a formação de produtos secundários de oxidação foi significativamente menor que nas demais embalagens (0,08-0,09Abs. a 532nm/g amostra aos 60 dias) e independeu do posicionamento da embalagem ser normal ou invertido (5º Processamento).

No requeijão das diversas embalagens estocadas no escuro durante o 4º Processamento (Figura 4.18b), os valores de índice de TBA não mostraram diferenças significativas ($p>0,05$) e oscilaram entre 0,02 e 0,04Abs. a 532nm/g amostra. No produto das embalagens estocadas no escuro do 5º Processamento (Figura 4.18d) verificou-se um efeito significativo do tempo e do tipo de embalagem ($p<0,05$), uma vez que os valores foram significativamente superiores no pote PP (0,08Abs. a 532nm/g amostra) quando comparados aos valores obtidos no VAF e na bisnaga Coex (0,04-0,05Abs. a 532nm/g amostra) aos 60 dias.

Entretanto, verificou-se que devido ao índice de TBA quantificar produtos secundários de oxidação, os valores começaram a diferir no produto quando este já estava sensorialmente muito alterado, conforme foi constatado nas análises sensoriais que são discutidas a seguir. Mas, embora este parâmetro não indique o início das reações de foto-oxidação do produto, os resultados obtidos comprovam ocorrência dessas alterações na fase lipídica do produto.

Para tentar avaliar o início das reações de oxidação alguns autores optaram pela quantificação de peróxidos que, de maneira geral, não levam a resultados confiáveis (KRISTENSEN et al., 2000; 2001; MORTENSEN et al. 2002b).

Outros autores também optaram pelo índice de TBA como um dos ensaios de acompanhamento da oxidação do produto, observando aumento do índice de TBA com o uso de embalagens de maior permeabilidade ao oxigênio (HONG et al., 1995a).

ZHANG et al. (1990) observaram resultados de TBA medidos a 532nm variando de 0 a 0,12mg materiais oxidados/g de queijo, porém não observaram alterações sensoriais em queijo Cheddar acondicionado a vácuo e exposto a 1280lux, 10°C por 28 dias.

Por outro lado, KRISTENSEN et al. (2001) não detectaram alterações nos índices de TBA lidos a 450nm em estudo de queijo processado espalhável acondicionado em copo de vidro com tampa metálica quando exposto a 2000lux e no escuro a 5 e 20°C por 1 ano. Entretanto, a 37°C, observaram aumento no índice de TBA e escurecimento significativo no produto devido à Reação de Maillard, o que levou à formação de hidroximetilfurfural que também contribui para a formação de pigmentos amarelos na reação de TBA, quando quantificada a 450nm.

Análises sensoriais

Os resultados das avaliações sensoriais do requeijão cremoso ao longo da estocagem a 10°C relativas aos estudos do 4º e 5º Processamentos indicaram efeito não significativo do tipo de embalagem ou da estocagem com e sem ação da luz nos atributos de cor (variação de 0,6 a 1,2 onde 0= cor branca-creme característica e 9= cor escura), gosto ácido (variação de 0,8 a 2,0 onde 0= fraco e 9= forte) e gosto amargo (variação de 0,3 a 1,8 onde 0= nenhum e 9= muito).

A não alteração da cor era esperada devido à boa característica de barreira ao vapor d'água das embalagens em estudo, conforme já comentado no item 4.3.2.2.

O não desenvolvimento de gosto ácido confirmou os resultados de pH obtidos (Tabela 4.27), não tendo sido observado também desenvolvimento de gosto amargo, porque, mesmo na luz, não foi observada ocorrência de proteólise (Tabela 4.27) neste produto nas diversas embalagens, o que também já foi discutido anteriormente no item 4.3.4. Tais resultados corroboram os obtidos durante o 1º e o 2º Processamentos quando os produtos foram estocados no escuro.

É importante comentar que os produtos expostos à luz tiveram as análises sensoriais interrompidas quando foram considerados inadequados para consumo pelos provadores.

Entretanto, a perda do odor característico (Figura 4.19a) e do sabor característico (Figura 4.20a), o desenvolvimento de sabor de ranço (Figura 4.21a) e, conseqüentemente a perda de qualidade global (Figura 4.22a), ocorreram mais rapidamente e acentuadamente nos três tipos de embalagens plásticas e no copo VS que no copo de VAF do 4º Processamento. Esses resultados foram confirmados no 5º Processamento em relação às embalagens que foram novamente avaliadas (Figuras 4.19c, 4.20c, 4.21c e 4.22c).

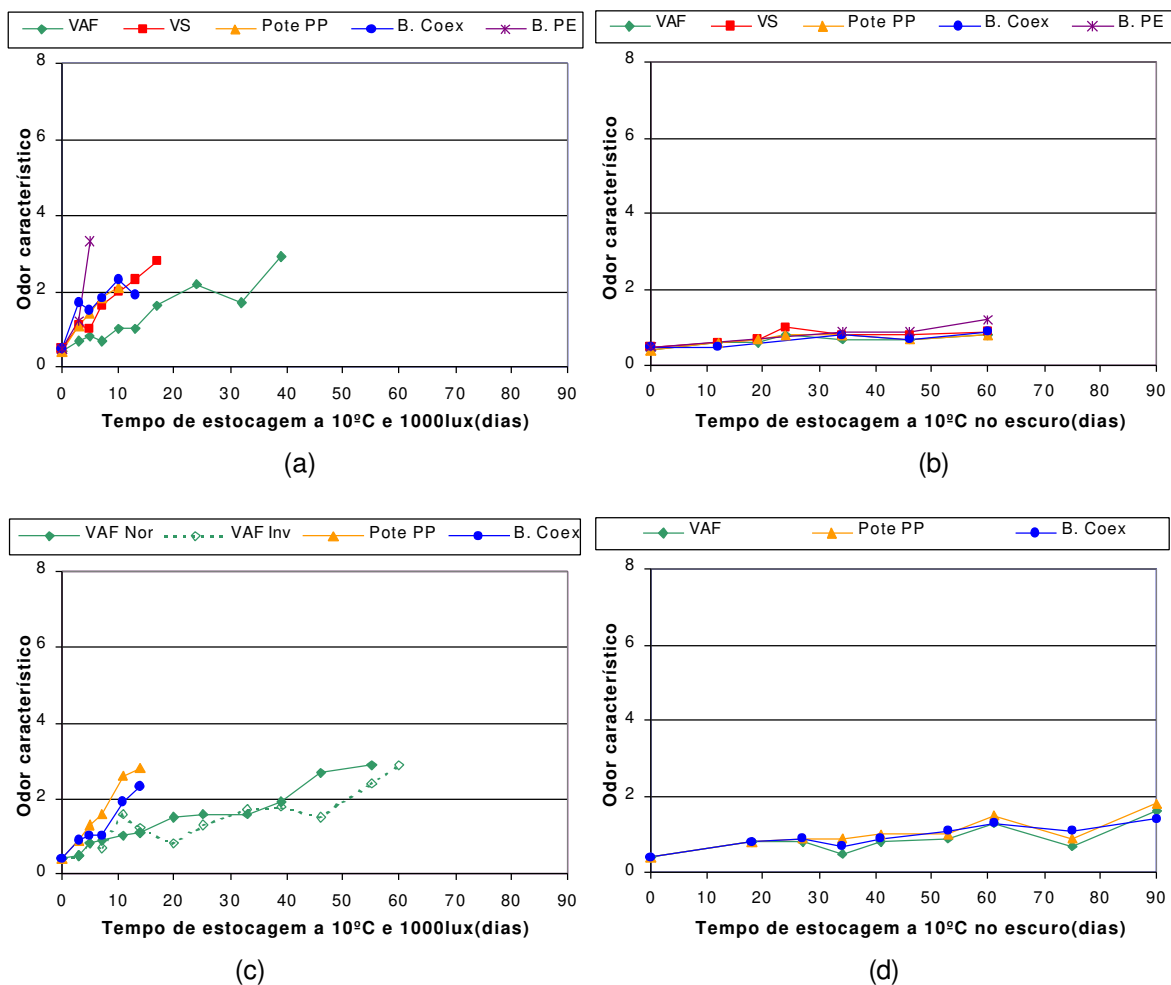


FIGURA 4.19 Perda de odor característico do requeijão cremoso estocado (a) sob 1000lux e (b) no escuro - 4º Processamento e (c) sob 1000lux e (d) no escuro - 5º Processamento (0=característico, 9=não característico).

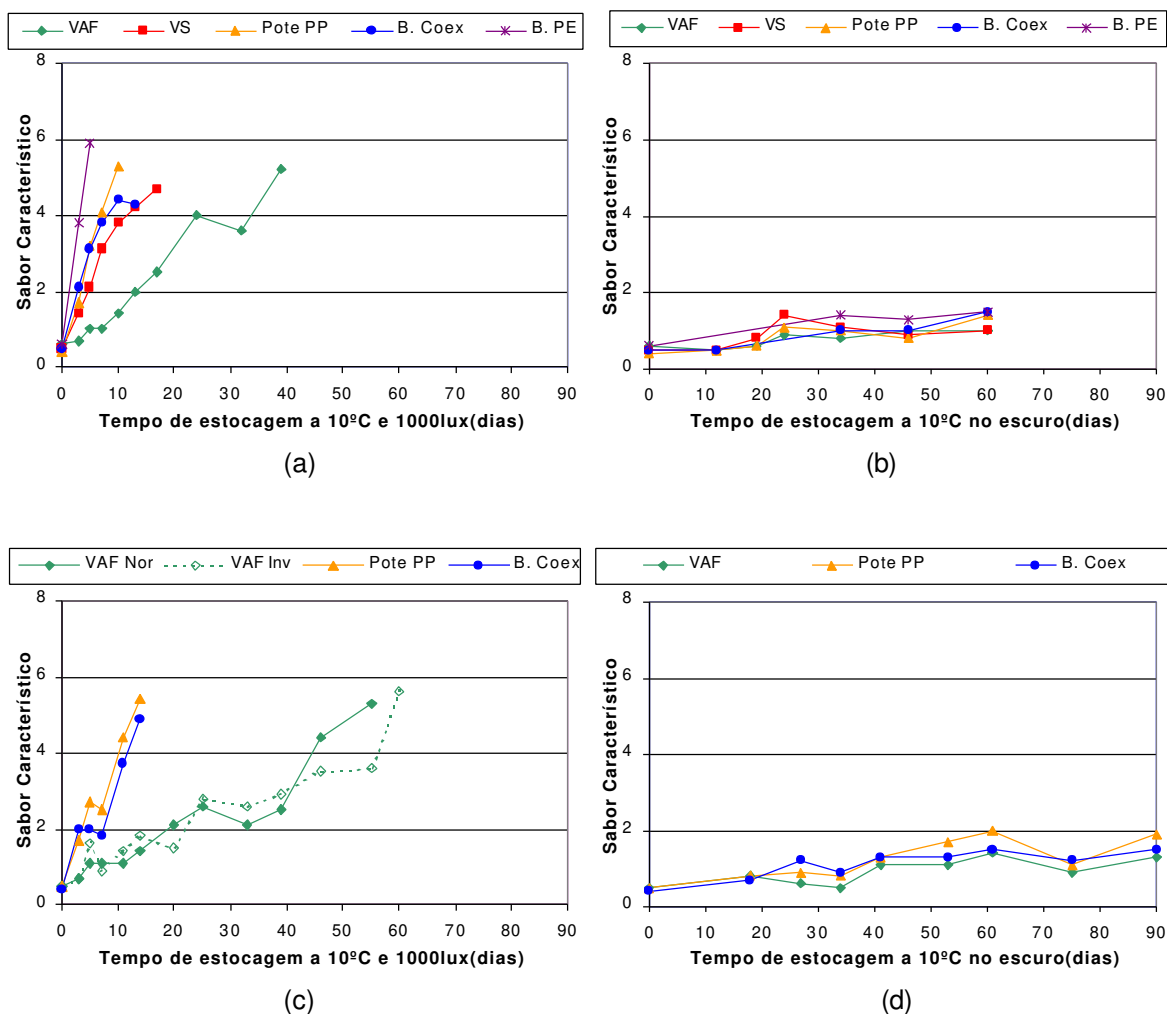


FIGURA 4.20 Perda de sabor característico do requeijão cremoso estocado (a) sob 1000lux e (b) no escuro - 4º Processamento e (c) sob 1000lux e (d) no escuro - 5º Processamento (0=característico, 9=não característico).

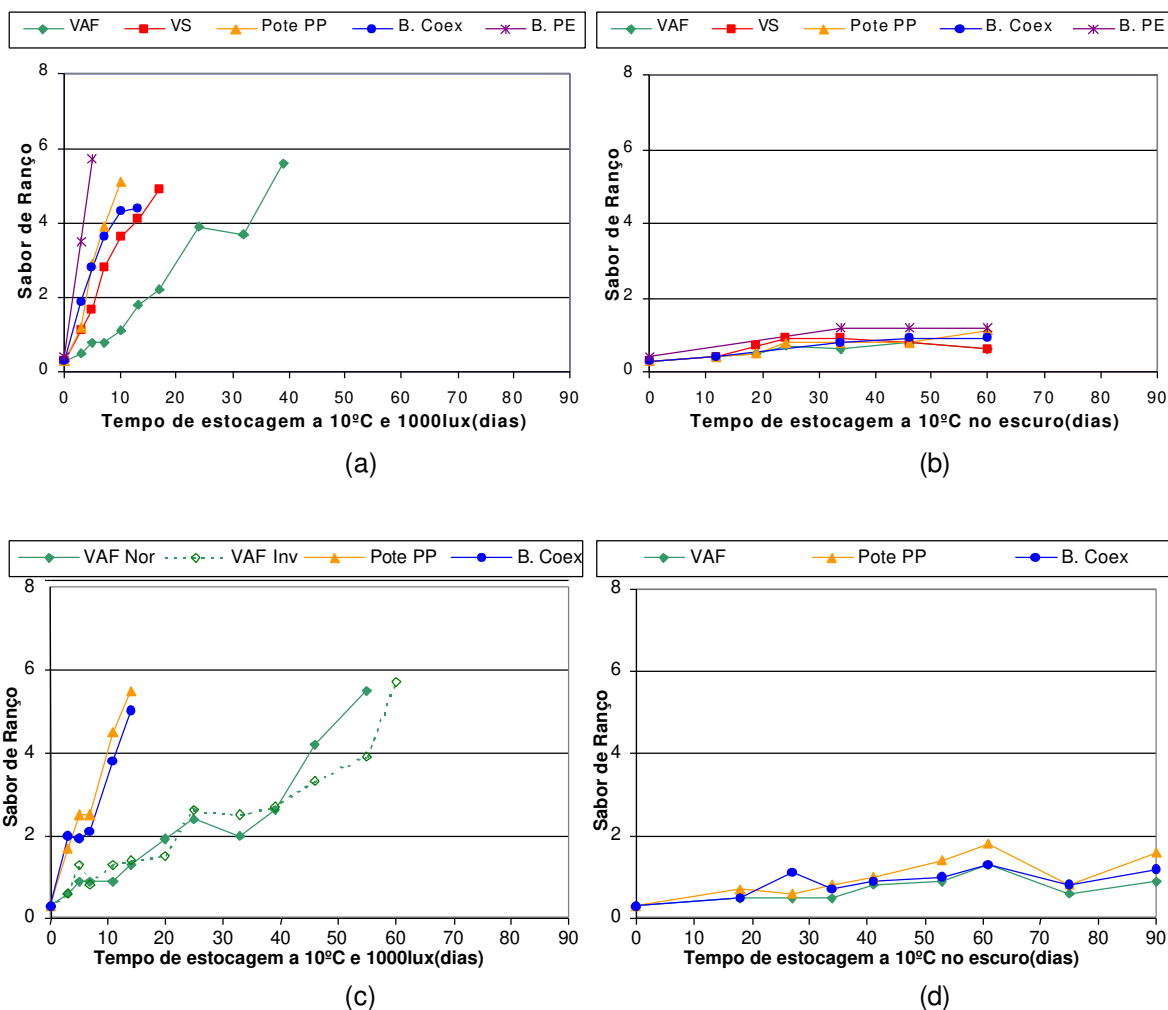


FIGURA 4.21 Desenvolvimento de sabor de ranço no requeijão cremoso estocado (a) sob 1000lux e (b) no escuro - 4º Processamento e (c) sob 1000lux e (d) no escuro - 5º Processamento (0=ausente, 9=forte).

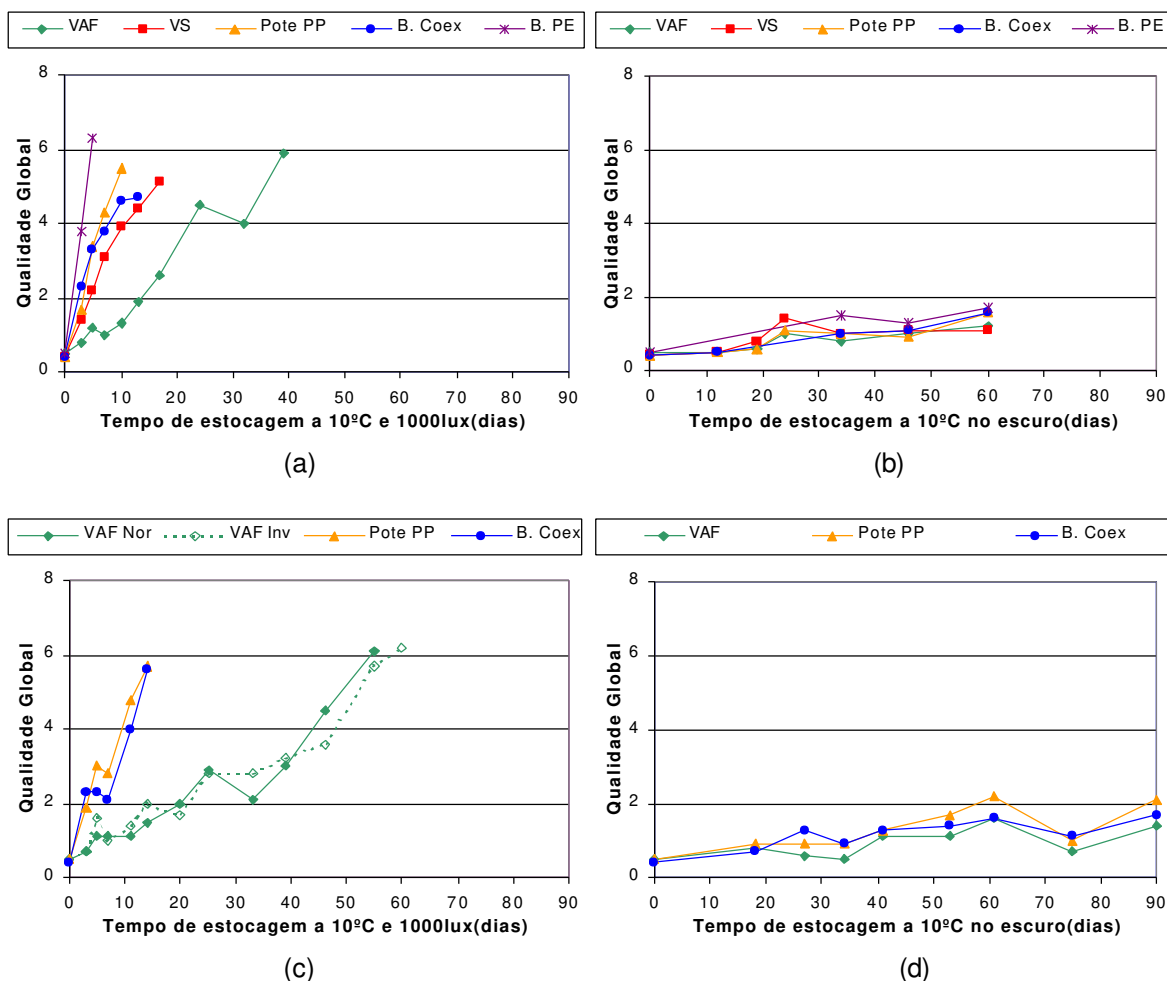


FIGURA 4.22 Perda da qualidade global no requeijão cremoso estocados (a) sob 1000lux e (b) no escuro - 4º Processamento e (c) sob 1000lux e (d) no escuro - 5º Processamento (0=excelente, 9=péssimo).

Com base em análise estatística ANOVA geral, comparando os resultados obtidos para esses atributos sensoriais avaliados em relação ao tipo de embalagem, condição (luz *versus* escuro) e tempo de estocagem, para os diferentes períodos em que as embalagens puderam ser avaliadas sensorialmente, obteve-se que a interação entre a condição de estocagem e o tempo foi significativa ao nível de erro de 5%. Assim, a perda de odor/sabor característico, o desenvolvimento de ranço e a perda de qualidade global foram significativamente maiores ao longo da estocagem sob luz, comparativamente à estocagem no escuro. Também foi significativa, ao nível de erro de 5%, a interação embalagem/condição de estocagem, ou seja, estatisticamente os atributos descritos anteriormente diferiram conforme o tipo de embalagem dependendo da estocagem ser sob luz ou no escuro. Exemplos do resultados da ANOVA feita

com os resultados de qualidade global do 4º e 5º Processamentos são apresentados nos Anexos 21 e 22, respectivamente.

Na **ausência de luz**, não foi observada diferença significativa no requeijão cremoso nas diferentes embalagens ao longo dos 60 dias de estocagem no estudo do 4º Processamento e ao longo dos 90 dias no estudo do 5º Processamento, quanto a todos os atributos sensoriais avaliados. Estes resultados estão de acordo com o observado nos estudos de estabilidade relativos a 10°C, no 1º e 2º Processamentos, quando constatou-se que nestas condições e nas embalagens avaliadas, alguma alteração no escuro somente ocorreu a partir de 120 dias de estocagem.

Em **presença de luz**, em geral, a partir de 3 dias de estocagem o produto da bisnaga PE começou a apresentar alteração sensorial significativa ($p < 0,05$) em relação às demais embalagens avaliadas no 4º Processamento, provavelmente devido à sua alta transmissão ao oxigênio. Comparando-se os estudos de estabilidade do 4º e o 5º Processamentos, entre 3 e 5 dias de estocagem sob 1000 lux, os requeijões cremosos acondicionados na bisnaga Coex e no pote PP começaram a apresentar alteração significativa nos parâmetros sensoriais avaliados ($p < 0,05$) em relação ao produto no vidro abre-fácil (VAF). O requeijão no vidro selado (VS) começou a apresentar alteração significativa dos parâmetros sensoriais a partir de 7 dias de estocagem em relação ao vidro abre-fácil (VAF) no estudo do 4º Processamento. Não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) em relação à qualidade sensorial dos produtos acondicionados no vidro abre-fácil (VAF), posicionado na forma normal ou invertida sob 1000lux na, durante todo o período de estocagem no 5º Processamento. O resultado da ANOVA feita com os resultados de qualidade global do requeijão no copo VAF nas duas situações é apresentado no Anexo 23.

Vale ressaltar que, durante a preparação das amostras para análise sensorial, foi constatado que a alteração sensorial do produto era mais acentuada na superfície em contato com os gases do espaço-livre da embalagem. Este fato foi observado tanto no copo de vidro abre-fácil (VAF) como no copo selado (VS), mesmo quando da inversão do VAF para estocagem do produto sob uma maior área de exposição à luz, onde a superfície de contato era o fundo do copo. Nas embalagens plásticas, além da deterioração do produto mais acentuada na região de contato com o espaço-livre, também observou-se que esta ocorria, em menor grau, nas regiões próximas à parede da embalagem. Para minimizar a interferência das diferenças que ocorriam conforme a

localização do produto na embalagem, procedeu-se a homogeneização do requeijão de cada tipo de embalagem antes de apresentá-lo aos provadores.

Com relação à foto-oxidação do produto, os resultados das análises sensoriais de desenvolvimento de ranço e perda de qualidade global apresentaram uma boa correlação com o índice de TBA - medido a 532nm (Figuras 4.18) apenas no estudado no 5º Processamento, uma vez que o coeficiente de correlação foi de 0,89, enquanto que no 4º Processamento o coeficiente de correlação foi de 0,45. Isto ocorreu porque no 5º Processamento esta correlação pode ser feita com dados obtidos até 14 dias de estocagem enquanto que no 4º Processamento somente até 10 dias, e um maior tempo de estocagem é mais favorável pois o índice de TBA quantifica produtos secundários de oxidação e estes são formados quando o produto já apresenta muita alteração sensorial, conforme comentado anteriormente.

Entretanto, é uma prática comum a busca por métodos objetivos para comprovar resultados subjetivos. MORTENSEN et al. (2002a) também concluíram no estudo com queijo Havarti fatiado, que apesar de terem medido a cor instrumental e acompanhado a formação de produtos voláteis de oxidação por cromatografia gasosa (hexanal, hexanol, pentanol), a ferramenta mais importante foi a avaliação sensorial de odor.

Com base nas características de perda de qualidade global (QG) do requeijão cremoso ao longo do tempo de estocagem (t) nas diversas embalagens avaliadas, procurou-se estimar o limite de aceitabilidade moderada do produto (considerando o atributo médio de 4,5). Assim, por meio de uma análise de regressão, utilizando o programa Statistica, foram estimados os períodos de vida útil para o requeijão cremoso quando acondicionado nos diferentes tipos de embalagem e estocado a 10°C sob 1000lux, os quais são apresentados na Tabela 4.28.

Também com base nas avaliações sensoriais, enquanto no escuro a 10°C, a vida útil do requeijão cremoso foi maior que 90 dias, independente do tipo de embalagem.

TABELA 4.28 Estimativa de vida útil a 10°C e sob luz do requeijão cremoso nas diferentes embalagens através dos resultados obtidos de perda de qualidade global nos estudos do 4º e 5º Processamentos.

Embalagem	Processamento	Relação QG X Tempo de estocagem	R_{aj}^2	Vida útil estimada (dias)
VAF	4º	$QG = 0,150 t^2$	0,973	30
	5º Posição normal	$QG = 0,002 t^2$ 0,960	0,920	47
	5º Posição invertida	$QG = 0,001 t^2 + 1,169$	0,938	49
VS	4º	$QG = -0,013 t^2 + 0,514 t$	0,996	13
Pote PP	4º	$QG = 0,586 t$	0,989	8
	5º	$QG = 0,362 t + 0,705$	0,965	10
B. Coex	4º	$QG = -0,029 t^2 + 0,701 t + 0,426$	0,997	9
	5º	$QG = 0,389 t$	0,960	12

R_{aj}^2 – coeficiente de determinação ajustado

QG = perda de qualidade global

Os resultados obtidos para a B.PE eram poucos e, assim, não suficientes para permitir ajuste pelo programa Statistica. Entretanto, os resultados obtidos indicam um período de vida útil sob luz ao redor de 4 dias.

Pelos resultados obtidos no estudo do 4º Processamento, verificou-se que sob luz a deterioração do requeijão ocorreu mais rapidamente e de maneira mais significativa na bisnaga PE. A incorporação de barreira ao oxigênio no material da embalagem (Bisnaga Coex) retardou a deterioração do produto levando a um ganho de aproximadamente 1 semana na vida útil do produto. Como a deterioração do produto era muito rápida na Bisnaga PE (confirmando os resultados obtidos no 3º Processamento), esta embalagem não foi analisada no 5º Processamento.

A durabilidade do produto sob luz na bisnaga Coex foi similar à do requeijão no pote de PP, tanto no estudo do 4º como 5º Processamento, indicando que fatores como a maior área superficial exposta à luz por quantidade de produto da bisnaga Coex contrabalançaram a maior quantidade inicial de oxigênio disponível no espaço-livre do pote de PP, além da maior transmissão ao oxigênio e maior transmissão de luz.

No estudo do 4º Processamento também verificou-se que a durabilidade do produto no VS foi muito semelhante à do Pote PP e da Bisnaga Coex, o que deve ser resultado da

quantidade inicial de oxigênio no espaço-livre. Segundo a literatura, a velocidade das reações de oxidação é aproximadamente proporcional à concentração de oxigênio para baixas concentrações, mas, independe da concentração de oxigênio quando esta é abundante, o que talvez justifica o resultado obtido (NAWAR, 1996).

Isto também justifica a maior durabilidade do produto no copo VAF do que no copo VS, uma vez que no 4º Processamento a quantidade de oxigênio disponível no espaço-livre por quantidade de produto no VAF era inicialmente de 0,006mL/g e VS de 0,020mL/g, além do fato de que o vácuo formado no VAF com a injeção de vapor momentos antes do fechamento, levou a menor pressão parcial de oxigênio no espaço-livre da embalagem e, conseqüentemente, a menor dissolução desse gás no produto, conforme descrito pela Lei de Henry (HERNANDEZ et al., 2000b).

Comparando-se ainda o VAF e a bisnaga Coex, embora ambos tivessem uma quantidade inicial de oxigênio no espaço-livre por quantidade de produto similar, principalmente no 4º Processamento (0,006mL/g de produto), a menor durabilidade do produto na bisnaga Coex pode ser justificada pela permeação de oxigênio pelas paredes da embalagem, que embora baixa, não ocorre no caso do copo de vidro, além do menor potencial de dissolução de oxigênio no VAF, conforme discutido anteriormente. Além disso, a área de produto exposta ao oxigênio (mesmo por permeação) era superior na bisnaga Coex do que no copo VAF, levando a maior oxidação do produto.

Comparando-se ainda o VAF no 4º e 5º Processamentos, verificou-se um maior período de aceitabilidade do produto do 5º comparativamente ao do 4º Processamento. Em parte, isto se deve ao maior vácuo formado no VAF no 5º Processamento, devido aos ajustes efetuados na máquina de fechamento entre o 4º e o 5º Processamentos, favorecendo uma menor quantidade de oxigênio disponível no espaço-livre e também uma menor dissolução do O₂ no produto, devido à menor pressão parcial deste gás.

Durante o estudo do 5º Processamento, também verificou-se que mesmo aumentando a área de exposição à luz da embalagem VAF (posição normal *versus* posição invertida), a perda de qualidade do produto foi muito semelhante. Uma possibilidade é que a influência da luz sobre a estabilidade do produto é menor no requeijão cremoso quando se minimiza a disponibilidade de O₂ neste tipo de embalagem, pela formação do vácuo interno. Outra possível explicação para este desempenho se deve a uma provável redução da transmissão ao oxigênio do sistema de fechamento pelo

contato com o produto, quando de seu posicionamento de forma invertida, o que compensaria sua maior área de exposição à luz. Embora não tendo sido possível a quantificação da transmissão ao oxigênio desta embalagem, a transmissão ao oxigênio do sistema de fechamento quando em contato com o ar do espaço-livre é teoricamente superior em comparação a quando este estiver em contato com o produto.

Dados sobre avaliações sensoriais de queijos processados levantando o efeito da luz também não são comuns na literatura para servir de comparação com os resultados observados neste trabalho. Nesta linha, PETTERSEN et al. (2002) avaliaram a estabilidade sensorial e oxidativa de *cream cheese* acondicionado sob leve vácuo em diferentes tipos de embalagem (PP/PE, PS/EVOH/PE, PET/PE todos com tampa PET revestido com óxido de Al), e estocados por 6 meses a 4°C no escuro e 24 horas na luz. Os autores observaram que o tipo de embalagem não afetou na estabilidade sensorial do *cream cheese*, mesmo na embalagem de PP/PE que apresentava barreira ao oxigênio significativamente inferior das demais. O efeito significativo foi a luz *versus* escuro em todos os atributos sensoriais

4.4.2.3 Conclusões – Estudo de estabilidade do produto com exposição à luz

Com base nos resultados obtidos nos estudos de estabilidade do requeijão cremoso estocado na presença e ausência de luz à 10±2°C/ 75 - 85%UR tem-se que:

Com relação às análises microbiológicas, de maneira geral, não foram observadas alterações no requeijão cremoso nas diferentes embalagens estudadas, indicando condições adequadas de processo e fechamento das embalagens em estudo.

Também não se observou alterações físico-químicas, uma vez que as variações ocorridas na maioria dos ensaios foram consideradas normais para requeijão cremoso, tanto na presença como na ausência de luz. Quanto ao índice de proteólise, este indicou estabilidade do sistema protéico do produto em todas as embalagens durante os períodos e condições estudados.

Os resultados dos índices de TBA lidos a 532nm, indicaram diferenças entre as amostras provenientes das diferentes embalagens expostas à luz, a fotoxidação do produto era muito acentuada e o mesmo já havia sido rejeitado na análise sensorial.

Em **ausência de luz**, a auto-oxidação do produto foi pouco perceptível sensorialmente, independente do tipo de embalagem avaliada, durante os 90 dias de estocagem a 10°C,

confirmando dos resultados obtidos anteriormente. Ou seja, independe da disponibilidade de oxigênio, seja no espaço-livre da embalagem, seja por permeação.

Em **presença de luz** (sob 1000lux) observou-se a ocorrência significativa de fotoxidação do produto, cuja intensidade variou conforme a disponibilidade de oxigênio, tendo sido importante não só a quantidade de oxigênio por quantidade de produto mas, também, a dissolução no produto, regida pela pressão parcial do gás no espaço-livre da embalagem.

Na bisnaga PE, a menor vida útil do produto acondicionado (em torno de 4 dias) foi devida à menor barreira ao oxigênio apresentada pelo material; a incorporação do material barreira a gases na bisnaga Coex levou a um aumento da vida útil do produto de cerca de uma semana comparativamente à bisnaga PE.

No pote PP, embora a relação área superficial por quantidade de produto seja favorecida comparativamente às demais embalagens avaliadas, a maior quantidade de oxigênio disponível, devido à permeação e maior volume inicial de oxigênio no espaço-livre por quantidade de produto, levou à rejeição do produto entre 8 e 10 dias;

O copo de vidro selado (VS) também apresentou problemas quanto à manutenção das características iniciais do requeijão cremoso, em virtude do volume inicial de oxigênio do espaço-livre disponível para as reações de fotoxidação do produto.

O copo de vidro abre-fácil (VAF) foi a embalagem que preservou por mais tempo a qualidade inicial do produto, mesmo quando estocado sob uma maior área de exposição à luz. Isto se deve à melhor característica de barreira ao oxigênio deste sistema de embalagem, proporcionada pelo material vidro aliado ao sistema de fechamento aplicado com o uso de vapor, o qual leva a uma menor pressão parcial de oxigênio no espaço-livre e, conseqüentemente à menor dissolução desse gás no produto, o que ocasiona redução nas reações fotoxidativas no produto.

5. CONCLUSÕES

Com base nos estudos de estabilidade de requeijão cremoso em diferentes embalagens com e sem exposição à luz pode-se concluir que:

- Em ausência de luz, a perda de qualidade do requeijão cremoso independe da disponibilidade de oxigênio, seja presente no espaço-livre, seja por permeação pela embalagem, para períodos de estocagem de até 150 dias a 10°C e 180 dias a 4°C.
- Em ausência de luz, o efeito das temperaturas de estocagem estudadas, 10°C e 4°C foi pouco significativo.
- A perda de qualidade de requeijão cremoso é significativamente maior se a estocagem do produto acondicionado nas embalagens for sob exposição à luz.
- Na luz, observou-se alteração na fase lipídica levando à alteração sensorial do produto com rejeição e definição de final de vida útil.
- Sob exposição à luz, o efeito de uma alta taxa de transmissão ao oxigênio foi observado, uma vez que a estabilidade do produto foi menor quando acondicionado na bisnaga PE em comparação com a obtida na estrutura da bisnaga Coex, indicando que requeijão cremoso, quando acondicionado em embalagens com taxa de transmissão ao oxigênio da ordem da bisnaga PE, apresenta vida útil curta a 10°C.
- Sob exposição à luz, o volume de oxigênio disponível afeta a estabilidade do produto de forma que, a partir de uma determinada concentração de oxigênio, seja por volume de gases no espaço-livre, ou seja por permeação, as reações de fotoxidação são muito aceleradas, uma vez que não foi observada diferença significativa no produto do vidro selado (VS), no pote de polipropileno (pote PP) e na bisnaga Coex (EVOH como camada barreira ao oxigênio), ou seja, não é suficiente a embalagem ser boa barreira a gases, é necessário reduzir a quantidade de oxigênio disponível para o produto.
- Sob exposição à luz, em condições de menor volume de oxigênio disponível no espaço-livre da embalagem, a redução da pressão parcial de oxigênio no espaço-livre permite um período de vida útil maior para o produto, porque menor é a disponibilidade de oxigênio no produto para ser consumido nas reações fotoxidativas, conforme foi observado no vidro com fechamento por vácuo (VAF).

Entre as embalagens estudadas, o vidro com sistema de fechamento por vácuo (VAF) foi o que preservou por mais tempo a qualidade inicial do produto, uma vez que apresenta a situação de mínima disponibilidade de oxigênio.

Recomenda-se que caso se opte pela utilização de embalagens plásticas, que seja dada preferência para as com pigmentação do material, que garanta proteção contra a incidência de luz, aumentando assim a estabilidade do produto.

Considerando os conhecimentos adquiridos com o desenvolvimento deste trabalho de pesquisa, sugere-se a continuidade do estudo da estabilidade de produtos de laticínios ao longo da estocagem com:

- Experimentos de produtos de laticínios prevendo ensaios de detecção e identificação de compostos voláteis associados às reações de fotoxidação, por meio da análise cromatográfica do espaço-livre da embalagem.
- Avaliação do efeito da exposição à luz por curto período de tempo, seguida de estocagem no escuro, avaliando sua influência na estabilidade e cinética de degradação de produtos lácteos.
- Levantamento da intensidade de luz em locais de armazenamento e comercialização de alimentos por categoria de produtos (refrigerados, temperatura ambiente, tipo de gôndola, etc.).
- Avaliação da eficácia do nível de pigmentação de materiais plásticos de forma a impedir reações de fotoxidação em produtos lácteos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACTON, G. H. The determination of lactose in milk. **The Australian Journal of Dairy Technology**, Victoria, v.32, n.2, p.11, 1977.

ALVES, R.M.V.; OLIVEIRA, L. M.; COLTRO, L.; GARCIA, E.E.C.; SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; PADULA, M. Caracterização física. In: **ENSAIOS para avaliação de embalagens plásticas rígidas**. Campinas: CETEA/ITAL, 1998, cap.6, p.85-128.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM **D2911-94 - Standard specification for dimensions and tolerances for plastic bottles**. Philadelphia, 2001. v.08.02, (1CD).

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM **D1746-96 Standard specification for transparency of plastic sheeting**. Philadelphia, 2001. v.08.01, (1CD).

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM **D646-96 Standard test methods for grammage of paper and paperboard (mass per unit area)**. Philadelphia, 2001. v.15.09, (1CD).

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM **D1003-95 - Standard test method for haze and luminous transmittance of transparent plastics**. Philadelphia, 2001. v.08.01, (1CD).

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. **D4166-94 - Standard test methods for measurement of thickness of nonmagnetic materials by means of a digital magnetic intensity instrument**. Philadelphia, 1994. 2p.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM **F1307-02 Standard test methods for oxygen gas transmission rate through dry packages using a coulometric sensor**. Philadelphia, 2002. 6p.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM - **D4279–95 Standard test method for water vapor transmission of shipping containers – constant and cycle methods**. Philadelphia, 1995. v.15.09. (1CD).

ANDRADE, S. E viva a diferença. **Plásticos em Revista**, São Paulo, v.42, n.492, p.8,10, 12, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. **NBR14910 Embalagens de vidro para produtos alimentícios – requisitos e métodos de ensaio**. São Paulo, 2002. 24p.

AUMENTA a diversidade dos copos para requeijão. **Revista Leite e Derivados**, São Paulo, v.9, n.51, p. 52-56, 2000.

AZEREDO, H. M. C. **Maximização da estabilidade oxidativa de óleo de soja acondicionado em garrafas plásticas**. Campinas, 2001. 130p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

BERGER, W., KLOSTERMEYER, H., MERKENICH, K., UHLMANN, G. Defectos en la calidad del queso fundido. In: **ELABORACIÓN de queso fundido – Uma guia JOHA**. Landerburg: BK Giulini Chemie, 1997a, Cap.9, p.145-169.

BERGER, W., KLOSTERMEYER, H., MERKENICH, K., UHLMANN, G. Materias primas e ingredientes adicionales. In: **ELABORACIÓN de queso fundido – Uma guia JOHA**. Landerburg: BK Giulini Chemie, 1997b, Cap.5, p.75-103.

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

BORLE, F.; SIEBER, R.; BOSSET, J.O. Photo-oxidation and photoprotection of foods, with particular reference to dairy products. An update of a review article (1993-2000). **Sciences des Aliments**, London, v.21, n.6, p-571-590, 2001.

BOSSET, J.O; GALLMANN, P.U.; SIEBER, R. Influence de la translucidité de l'emballage sur la conservation du lait et des produits laitiers. **Lait**, Paris, n.73, p.3-49, 1993.

BOSSET, J.O; SIEBER, R.; GALLMANN, P.U. Light transmittance: influence on the shelf life of milk and milk products. In: **TECHNICAL guide for the packaging of milk and milk products**. Brussels: IDF – International Dairy Federation, 1995. cap.6. p.19-39.

BOURGEOIS, C.M.; CLERET, J. J. Principes de base du contrôle microbiologique industriel et de l'exploitation de ses résultats. In: NINDGREN, G. (Ed). **Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires**. Paris: Lavoisier-Tec & Doc., 1990. p.413.

BRADLEY, D.G.; MIN, D.B. Singlet oxidation of foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.31, n.3, p.211-236, 1992.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002. Regulamentos Técnicos. In: **NOVA legislação comentada de produtos lácteos – Revisada e ampliada**. São Paulo: [s.n.], 2002. p.171-207.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº 359 de 4 de setembro de 1997. Aprovar regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Requeijão Cremoso ou Requesón. In: **NOVA legislação comentada de produtos lácteos e de alimentos para fins especiais – diet, light e enriquecidos**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 1998. p.100-104.

BRASIL. Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n.105 de 19 de maio de 1999. Aprova o regulamento técnico sobre disposições gerais para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 20 maio, 1999. N.95, Seção 1, p.21-34.

BRIOZZO, J.; AMATO DE LAGARDE, E.; CHIRIFE, J.; PARADA, J.L. *Clostridium botulinum* type A growth and toxin production in media and process cheese spread. **Applied and Environmental Microbiology**. V.45, n.3, mar., p.1150-1153, 1983.

CAVALCANTE, A. B. D. **Desenvolvimento e padronização de formulação para o processamento de requeijão tradicional**. Viçosa, 1991. 112p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa.

CHRISTEN, G.L.; DAVIDSON, J.S.; MCALLISTER, J.S.; ROTH, L. A. Coliform and other indicator bacteria. *In*: MARSHALL, R.T. (Ed) **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**. [s.L.]: American Public Health Association, 1992. p.247-269.

COLCHIN, L. M.; OWENS, S. L.; LYUBACHEVSKAYA, G.; BOYLE-RODEN, E.; RUSSEK-COHEN, E. RANKIN, S.A. Modified atmosphere packaged cheddar cheese shreds: influence of fluorescent light exposure and gas type on color and production of volatile compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Easton, v.49, n.5, p.2277-2282, 2001.

COLTRO, L.; PADULA, M.; SARON, E. S.; BORGHETTI, J.; BURATIN, A. E. P. Evaluation of a UV absorber added to PET bottles for edible oil packaging. **Packaging Technology and Science**, Surrey, v.16, n.1, p. 15-20, 2003.

CONDACK, J. **Ultrafiltração de soro de queijos: parâmetros operacionais e utilização do concentrado protéico na fabricação de requeijão cremoso**. Viçosa, 1993. 120p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa.

DATAMARK Brazil Focus. **Queijos**. Disponível na Internet:

<<http://www.brazilfocus.com/newbrazilfocus/ASP/bf/Yearlypd/ur01691.asp>>. Acesso em 10 Fev 2004.

DECAGON DEVICES, INC. **Aqua lab – model CX-2-Water activity meter**. [s.l.s.d.]. 73p. (Operator's Manual Version 3.0).

DEGER, D.; ASHOOR, S.H. Light- induced changes in taste, appearance, odor and riboflavin content of cheese. **Journal of Dairy Science**, Arizona, v.70, n.7, p.1371-1376. 1987.

ECKNER, K.F.; DUSTMAN, W. A, RYS-RODRIGUEZ, A. Contribution of composition, physicochemical characteristics and polyphosphates to the microbial safety of pasteurized cheese spreads. **Journal of Food Protection**, v.57, n.4, p.295-300, 1994.

EL-SHIBINY, S.; METWALLY, M. M.; EL-ETRIBY, H. M.; EL-DIEB, S.M., ASSEM, F. M. Changes in processed cheese during storage as affected by the packaging materials. **Egyptian Journal of Dairy Science**, Alexandria, n.24, p.197-206, 1996.

EMBALAGEM industrial do tradicional requeijão. **Revista Leite e Derivados**, São Paulo, v.3, n.18, p.51, 1998.

ESPINOZA-ATENCIA, E.J. **Fotoxidação de óleos de soja e de milho acondicionados em embalagens plásticas**. Campinas, 1995. 153p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

ESPINOZA-ATENCIA, E.J.; FARIA, J. A. F. Fotoxidação de óleos comestíveis em embalagens plásticas transparentes. **Óleos & Grãos**, São Paulo, v.6, n.19, p.44-51, jul./ago.1994.

FERNANDES, A. G. Parâmetros fundamentais para o processamento de queijos fundidos. In: MARTINS, J. F.; FERNANDES, A. G. **Processamento de requeijão cremoso e outros queijos fundidos**. Campinas: ITAL, 1981b., Cap. 5, p. 1-11. (Apostila).

FERNANDES, A. G. Processamento: tipos e cálculos. In: MARTINS, J. F.; FERNANDES, A. G. **Processamento de requeijão cremoso e outros queijos fundidos**. Campinas: ITAL, 1981d., Cap. 7, p. 1-14. (Apostila).

FERNANDES, A. G. Sais emulsificantes. In: MARTINS, J. F. ; FERNANDES, A. G. **Processamento de requeijão cremoso e outros queijos fundidos**. Campinas: ITAL, 1981a. Cap.4, p.1-7. (Apostila).

FERNANDES, A. G. Variações nos principais parâmetros de processamento de acordo com o tipo de queijo fundido. In: MARTINS, J. F.; FERNANDES, A. G. **Processamento de requeijão cremoso e outros queijos fundidos**. Campinas, ITAL, 1981c., Cap. 6, p. 1-4. (Apostila).

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.

FERNANDES, A. G.; VALLE, J. L. E.; CAMPOS, S. D. S.; MORI, E. E. M. Formulação de sais emulsificantes para a elaboração de requeijão cremoso e outros tipos de queijos fundidos. Parte I. **Revista do Instituto Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.40, n.237. p.27 - 43, 1985a.

FERNANDES, A. G.; VALLE, J. L. E.; CAMPOS, S. D. S.; MORI, E. E. M. Formulação de sais emulsificantes para a elaboração de requeijão cremoso e outros tipos de queijos fundidos. Parte II. **Revista do Instituto Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.40, n.238. p.27-39, 1985b.

FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; COGAN, T.M.; McSWEENEY, P.L.H. Bacteriology of cheese milk. In: **FUNDAMENTALS of cheese science**. Gaithersburg: Aspen Publishers, 2000a. Cap.4, p.45-53.

FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; COGAN, T.M.; McSWEENEY, P.L.H. Processed cheese and substitute or imitation cheese products. In: **FUNDAMENTALS of cheese science**. Gaithersburg: Aspen Publishers, 2000b. Cap.18, p.429-451.

FOX, P.F.; McSWEENEY, P.L.H. Vitamins in milk and dairy products. In: **DAIRY Chemistry and Biochemistry**. London: Blackie Academic & Professional, 1998. Cap.6, p.265-298.

FRANK, J. F.; CHRISTEN, G. L.; BULLERMAN, L. B. Tests for groups of microorganisms. In: MARSHALL (Ed.) **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**. [s.L]: American Public Health Association, 1992. p.271-286.

GARCIA, E.E.C.; PADULA, M.; SARANTOPOULOS, C.I.G.L. **Embalagens plásticas: propriedades de barreira**. Campinas: CETEA/ITAL, 1989. 44p.

GIGANTE, M.L. **Requeijão Cremoso obtido por ultrafiltração de leite pré-acidificado adicionado de concentrado protéico de soro**. Campinas, 1998. 122p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

GOYAL, G.K.; BABU, K.E. Influence of packaging and storage on the chemical quality of processed cheese. **Indian Journal of Dairy Science**, n.44, p.274-279, 1991.

GUGUMUS, F. Light stabilizers. In: ZWEIFEL, H. [Ed.]. **Plastics additives handbook**. 5th ed. Munich: Hanser, 2001. Chapter 2, p.141-425.

HABERLI, L. Tubos buscam consolidação. **Embalagem Marca**, São Paulo, v.5, n.47, p.14-18, 2003.

HERNANDEZ, R. J.; SELKE, S.E.M.; CULTER, J.D. Major plastics in packaging. In: **PLASTIC packaging – properties, processing, applications and regulations**. Ohio: Hanser Gardner Publications, 2000a. Cap.4, p.89-134.

HERNANDEZ, R. J.; SELKE, S.E.M.; CULTER, J.D. Mass transfer in polymeric packaging systems: sorption, diffusion, permeation and shelf life. In: **PLASTIC packaging – properties, processing, applications and regulations**. Ohio: Hanser Gardner Publications, 2000b. Cap.14, p.313-352.

HOYLAND, D. V.; TAYLOR, A J. A review of the methodology of the 2-thiobarbituric acid test. **Food Chemistry**, Oxford, v.40, p.271-291, 1991.

HONG, C.M.; WENDORFF, W.L.; BRADLEY Jr., R.L. Effects of packaging and lighting on pink discoloration and lipid oxidation of annatto-colored cheeses. **Journal of Dairy Science**. Madison, v. 78, n. 9, p.1896-1902, 1995a.

HONG, C.M.; WENDORFF, W.L.; BRADLEY Jr., R.L. Factors affecting light-induced pink discoloration of annatto-colored cheeses. **Journal of Food Science**. Chicago, v. 60, n. 1, p. 94 -97, 1995b.

HORWITZ, W. ed. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemists**. Washington: AOAC, 1975. p.284. (Proc. 16223).

HOUGHBY, G. A.; MATURING, L. J.; KOENIG, E. K. Microbiological count methods. In: MARSHALL (Ed). **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**. [S.l]: American Public Health Association, 1992. p.271-286.

IMO INDUSTRIES INC. **ICP - 2000 spectrometer**. Dedford: BAIRD analytical Instruments Division, 1990. 102p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3.ed. São Paulo: IAL, 1985. v.1., 371p.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Determination of the protein content of processed cheese products**. Belgium: FIL/IDF, 1964. 3p. (FIL-IDF, 25).

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Determination of the total nitrogen content of milk by Kjeldahl method**. Belgium: FIL/IDF, 1962. 3p. (FIL-IDF, 20).

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Determination of the total solids content of cheese and processed cheese**. Belgium: FIL/IDF, 1982. 2p. (FIL/IDF, 4A).

JENKINS, W. A; HARRINGTON, J.P. The chemistry and manufacture of polymers used in packaging. In: **PACKAGING foods with plastics**. Lancaster: Technomic Publishing, 1991. Cap.4, p.35-63.

JURIC, M.; BERTELSEN, G.; MORTENSEN, G.; PETERSEN, M. A. Light-induced colour and aroma changes in sliced, modified atmosphere packaged semi-hard cheeses. **International Dairy Journal**, v.13, p.239-249, 2003.

KAMIO, G. Sortimento cremoso. **Embalagem Marca**, São Paulo, v.5, n.47, p.22,24-25, 2003.

KAUTTER, D. A.; LILLY JR., T ; LYNT, R. K.; SOLOMON, H. M. Toxin production by *Clostridium botulinum* in shelf-stable pasteurized processed cheese spreads. **Journal of Food Protection**, v.42, n.10, p.784-786, 1979.

KAUTTER, D. A.; LYNT, R. K.; LILLY JR., T.; SOLOMON, H. M. Evaluation of the botulism hazard from imitation cheeses. **Journal of Food Science**, v.46, p.749-764, 1981.

KRISTENSEN, D.; HANSEN, E.; ARNDAL, A.; TRINDERUP, R. A.; SKIBSTED, L. H. Influence of light and temperature on the color and oxidative stability of processed cheese. **International Dairy Journal**, v.11, p. 837-843, 2001.

KRISTENSEN, D.; ORLIEN, V.; MORTENSEN, G.; BROCKHOFF, P.; SKIBSTED, L. H. Light-induced oxidation in sliced Havarti cheese packaged in modified atmosphere. **International Dairy Journal**, v.10, p. 95-103, 2000.

KRISTENSEN, D.; SKIBSTED, L.H. Comparison of three methods based on electron spin resonance spectrometry for evaluation of oxidative stability of processed cheese. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.47, n. 8, p. 3099-3104, 1999.

KRISTOFFERSEN, T.; STUSSI, D.B.; GOULD, I. A Consumer-packaged cheese. I. Flavor stability. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.35, n. 5/6, p.496-501, 1964.

MORENO, I.; VIALTA, A.; LERAYER, A.L.S.; SALVA, T.J.G.; VAN DENDER, A.G.F.; WOLF, B.; MACHADO, R.C. Qualidade microbiológica de leites pasteurizados produzidos no Estado de São Paulo. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, v.4, n.20, p.56-61, 1999.

MORENO, I.; VIALTA, A. Queijos processados: qualidade microbiológica das matérias-primas e do produto final. In: **SEMINÁRIO requeijão cremoso e outros queijos fundidos – aspectos de qualidade, processamento, rotulagem, legislação e mercado**. Campinas: TECNOLAT/ITAL, 2000, Cap.6, 23p.

MORTENSEN, G.; BERTELSEN, G.; MORTENSEN, B.K.; STAPELFELDT, H. Light-induced changes in packaged cheeses. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 85-102, 2004.

MORTENSEN, G.; SØRENSEN, J.; DANIELSEN, B.; STAPELFELDT, H. Effect of specific wavelengths on light-induced quality changes in Havarti cheese. **Journal of Dairy Research**, v.70, p.413-421, 2003a.

MORTENSEN, G.; SØRENSEN, J.; STAPELFELDT, H. Effect of light and oxygen transmission characteristics of packaging materials on photo-oxidative quality changes in semi-hard havarti cheeses. **Packaging Technology and Science**, Surrey, v.15, n.3, p. 121-127, 2002a.

MORTENSEN, G.; SØRENSEN, J.; STAPELFELDT, H. Effect of modified atmosphere packaging and storage conditions on photooxidation of sliced Havarti cheese. **European Food Research and Technology**, v. 216, p. 57-62, 2003b.

MORTENSEN, G.; SØRENSEN, J.; STAPELFELDT, H. Light-induced oxidation in semihard cheeses. Evaluation of methods used to determine levels of oxidation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n.15, p.4364-4370, 2002b.

MORTENSEN, G.; SØRENSEN, J.; STAPELFELDT, H. Response surface models used for prediction of photooxidative quality changes in havarti cheese. **European Food Research and Technology**, v. 216, p. 93-98, 2003c.

MORTENSEN, G.; STAPELFELDT, H.; SØRENSEN, J. Reduction of photo-oxidative quality changes in cheeses by proper packaging. In: IAPRI CONFERENCE ON PACKAGING, 13, 2002, East Lansing. **Proceedings of the 13th IAPRI Conference on Packaging**. Boca Raton: CRC Press, 2002c. v.1, n.1, p. 531-540.

MUNCK, A.V.; CAMPOS, W.A. Requeijão: um produto brasileiro. **Informe Agropecuário**, v. 42, n.15, p. 35-38, 1984.

MUIR, D.D.; TAMINE, A Y.; SHENANA, M.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**, London, v.32, n.1, p.41-49, 1999.

NAWAR, W.W. Lipids. In: FENNEMA, O. R. **Food Chemistry** 3rd.ed. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996. p. 225 – 319.

NEVES, B. S.; DUCRUET, P. Emprego da ultrafiltração na fabricação de requeijão cremoso. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.43, n. 257, p.3-8, 1988.

NIELSEN, M.S. Light and packaging protection. IAPRI SYMPOSIUM, 21., 2003, Valência. **Proceedings...** Valência: IAPRI, 2003.

OLIVEIRA, J.S. **Queijos: fundamentos tecnológicos**. Campinas: UNICAMP, 1986. 146p.

ORTIZ, S.A; JAIME, S. B. M.; OLIVEIRA, L. M.; SEGANTINI, E. Avaliação do desempenho de sistemas de fechamento de embalagens de vidro. In: **AVALIAÇÃO da qualidade de embalagens de vidro**. Campinas: CETEA/ITAL, 1996. Cap.6, p.111-146.

OSRAM. Light can be white, white, white or white. The right fluorescent lamps from OSRAM, whatever the application. München, [s.d.]. 29p.

PASCUET, N. Embalagens para laticínios In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 12., 1994, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Instituto de Laticínios Cândido Tostes, p. 170-172, 1994.

PETTERSEN, M. K.; LØKKEBERG, Ø.; SOLGAARD, R.T.; NILSSON, A. Effect of different packaging materials and influence of light on oxidative stability of cream cheese. In: IAPRI CONFERENCE ON PACKAGING, 13, 2002, East Lansing. **Proceedings...** Boca Raton: CRC Press, 2002. v.1, n.2, p. 1092-1095.

PHILIPS – Philips Lighting – The light site – Global. Disponível na Internet: <http://www.lighting.philips.com/feedback/feedback.pl?lang=3>>. Acesso em 15 Set 2003.

RABÊLO, A.M.S.; RABÊLO, D. S.; MOURA, C.J.; ROLIM, H.M.V.; MONTEIRO, A.M.R. Avaliação das características físico-químicas e viscosidade de requeijão cremoso tradicional e light comercializados em Goiânia, GO. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.57, n.327, p.242-245, jul/ago, 2002.

RAPACCI, M. **Estudo comparativo das características físicas e químicas, reológicas e sensoriais do requeijão cremoso obtido por fermentação láctica e acidificação direta**. Campinas, 1997. 144p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

RAPACCI, M.; VAN DENDER, A.G.F. Estudo comparativo das características físicas, químicas e do grau de desmineralização de diferentes tipos de massas utilizadas no processamento de Requeijão Cremoso. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.53, n.304, p.223-237, jul/ago, Juiz de Fora, 1998.

RAPACCI, M.; VAN DENDER, A.G.F. Qualidade da matéria-prima e cuidados nos processamentos de requeijão cremoso e queijos fundidos. **Leite e Derivados**, São Paulo, n.37, p.18-26, nov/dez, 1997.

RAPACCI, M.; VAN DENDER, A.G.F.; MORI, E.E.M. Avaliação das principais características sensoriais de requeijão cremoso fabricado com massa obtida por fermentação láctica e acidificação direta a quente. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.54, n.309, p.156-164, jul./ago., 1999.

REQUEIJÃO cremoso – Destaque cada vez maior na mesa do consumidor. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, v.4, n. 21, p. 38-40, maio/jun., 1999.

REQUEIJÃO Paulista para mercado institucional. **Revista Leite e Derivados**, São Paulo, v.9, n.53, p.14, 2000.

REQUEIJÃO cremoso agora em embalagem longa vida. **Revista Leite e Derivados**, São Paulo, v.10, n.57, p.51-52, 2001.

ROBERTS, R.F.; ZOTTOLA, E.A Shelf-life of pasteurized process cheese spreads made from cheddar cheese manufactured with a nisin-producing starter culture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, n.7, p.1829-1836, 1993.

SANTOS, J.A Requeijão – produto típico do Brasil com mercado emergente. **Revista Leite e Derivados**, São Paulo, v.11, n.66, p.36-46, set/out, 2002.

SCHÄR, W.; BOSSET, J. O. Chemical and physico-chemical changes in processed cheese and ready-made fondue during storage. A review. **Lebensmittel – Wissenschaft und – Technologie**, v. 35, n. 1, p. 15-20, 2002.

SELOVAC investe no mercado de requeijão. **Leite & Derivados**, São Paulo, v.12, n.72, p.68, 2003

SERRES, L.; AMARIGLIO, S.; PETRANSXIENE, D. **Contrôle de la qualité des produits laitiers**. Ministère de l'Agriculture. Direction des Services Vétérinaires. Tome I. Analyse Physique et Chimique (Chimie VII-6), 1973.

STATSOFT. Statistic for windows, version 5.0. Tulsa (USA): Statsoft Inc., 1995.

SIDWELL, C. G.; SALWIN, H.; MITCHEL JUNIOR, J.H. Measurement of oxidation in dried milk products with thiobarbituric acid. **The Journal of American Oil Chemists Society**, Chicago, v.32, p.13-16, jan., 1955.

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. 237p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

SILVA, A. T.; VAN DENDER, A G.F.; MORENO, I. Estabilidade microbiológica de requeijão cremoso fabricado por diferentes processos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.58, n.333, p-154-157, 2003.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; NORRILL, T. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Traduzido por Ricardo Bicca de Alencastro e Roberto de Barros Faria. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara, p. 203-224, 1987. Tradução de: Spectrometric identification of organic compounds.

SKIBSTED, L. H. Light-induced changes in dairy products - Packaging of milk products. **Bulletin of The International Dairy Federation**, Brussels, n. 346, p.4-9, 2000.

TANAKA, N.; TRAISMAN, E.; PLANTINGA, P.; FINN, L.; FLOM, W.; MESKE, L. GUGGISBERG, J. Evaluation of factors involved in antibotulinal properties of pasteurized process cheese spreads. **Journal of Food Protection**, v.49, n. 7, p.526-531, 1986.

TARLADGIS, B.G.; WATTS, B.M.; YOUNATHAN, M.T. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. **The Journal of American Oil Chemists Society**, Chicago, v.37, n.1, p.44-48, 1960.

VAKALERIS, D.G.; PRICE, W.V. Rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 42, n. 2., p. 264-76, 1959.

VAN DENDER, A.G.F. Princípios básicos da fabricação de queijos processados e de requeijão cremoso. **Boletim técnico-informativo do Centro de Tecnologia de Laticínios**. v.2, n.1, jan./fev./mar., 1997.

VAN DENDER, A. G. F. Alternativas tecnológicas para fabricação de requeijão cremoso e outros queijos fundidos. In: **SEMINÁRIO sobre requeijão cremoso e outros queijos fundidos - aspectos de qualidade, processamento, rotulagem, legislação e mercado**. Campinas: TECNOLAT/ ITAL, 2000a, Cap.5, 16p.

VAN DENDER, A. G. F. Fabricação de queijos fundidos e de requeijão cremoso: princípios básicos, definição, tipos e aspectos legais. In: **SEMINÁRIO sobre requeijão cremoso e outros queijos fundidos - aspectos de qualidade, processamento, rotulagem, legislação e mercado**. Campinas: TECNOLAT/ ITAL, 2000b, Cap.1, 28p.

VAN DENDER, A. G. F.; ALVES, R. M. V.; SILVA, A T.; JAIME, S.B., JUNQUER, M.L., SILVA, V.M., ABUJAMRA, F. Determinação da oxidação de requeijão cremoso pelo método de TBA. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.57, n.327, p-53-60, 2002.

ZHANG, D.; MAHONEY A. W. Effect of iron fortification on quality of cheddar cheese. 2. Effects of aging and fluorescent light on pilot scale cheeses. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.9, p.2252-2258, 1990.

ZOTTOLA, E.A; YEZZI, T. L.; AJAO, D. B.; ROBERTS, R.F. Utilization of cheddar cheese containing nisin as a antimicrobial agent in other foods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.24, n.1-2, p.227-238, 1994.

Nota: Referências Bibliográficas elaboradas de acordo com: ABNT NBR 6023:2002. Informação e documentação – Referências – Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p.

ANEXOS

Análises microbiológicas do produto durante estocagem

ANEXO 1

**Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem a 4 e 10°C no escuro na embalagem
copo VAF
1º Processamento**

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)												
	1	14		32		46		60		74		90	
	4 ⁰ C	10 ⁰ C	4 ⁰ C	10 ⁰ C	4 ⁰ C	10 ⁰ C	4 ⁰ C	10 ⁰ C	4 ⁰ C	10 ⁰ C	4 ⁰ C	10 ⁰ C	4 ⁰ C
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	5,8×10 ²	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Microrganismos psicrótróficos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	1,0×10 ²	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Bolores e leveduras (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXO 2

Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem a 4 e 10°C no escuro na embalagem copo VAF 2º Processamento

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)																	
	1		17		32		46		60		74		90		147		180	
	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	<10	1,1×10 ³	<10	1,7×10 ²	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	
Microrganismos psicrotróficos (UFC/g)	7,0×10 ¹	<10	<10	<10	5,0×10 ¹	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	2,0×10 ²	<10	<10	<10	
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	5,3×10 ²	3,5×10 ²	<10	<10	
Esporos aeróbios psicrotróficos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	2,2×10 ²	<10	<10	
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	<3	<3	7	<3	<3	<3	4	1,1×10 ¹	3	9	2,3×10 ¹	9,3×10 ¹	9,3×10 ¹	<3	<3	<3	<3	
Esporos anaeróbios psicrotróficos (NMP/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	
Bolores e leveduras (UFC/g)	2,0×10 ¹	<10	4,0×10 ¹	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	1,7×10 ³	1,6×10 ²	<10	<10	

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXO 3

**Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem a 4 e 10°C no escuro na embalagem
copo VS
1º Processamento**

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)												
	1	14		32		46		60		74		90	
	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Microrganismos psicrotróficos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Bolores e leveduras (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXO 4

Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem a 4 e 10°C no escuro na embalagem copo VS 2º Processamento

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)																	
	1		17		32		46		60		75		90		147		180	
	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	<10	5,0×10 ²	<10	<10	5,9×10 ²	<10	<10	<10	<10	9,0×10 ²	<10	3,0×10 ³	<10	<10	<10	<10	<10	
Microrganismos psicrotróficos (UFC/g)	5,0×10 ¹	2,0×10 ¹	6,0×10 ¹	1,7×10 ²	9,0×10 ¹	<10	<10	<10	<10	5,5×10 ⁴	<10	1,3×10 ⁴	<10	2,0×10 ²	<10	<10	<10	
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	6,5×10 ²	4,9×10 ³	<10	<10	<10	
Esporos aeróbios psicrotróficos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	3	7	2,3×10 ¹	4	1,5×10 ¹	9	<3	<3	<3	<3	
Esporos anaeróbios psicrotróficos (NMP/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	
Bolores e leveduras (UFC/g)	<10	<10	<10	5,0×10 ¹	<10	<10	<10	8,0×10 ¹	<10	<10	<10	<10	<10	1,7×10 ³	2,5×10 ²	<10	<10	

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXO 5

**Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem a 4 e 10°C no escuro na embalagem
Pote PP
1º Processamento**

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)												
	1	14		32		46		60		74		90	
	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Microrganismos psicrotróficos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Bolores e leveduras (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXO 6

Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem a 4 e 10°C no escuro na embalagem Pote PP 2º Processamento

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)																
	1	17		32		46		60		75		90		147		180	
	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	1,0×10 ⁴	<10	<10	<10	<10	<10
Microrganismos psicrótrófos (UFC/g)	<10	2,0×10 ¹	1,4×10 ²	<10	<10	<10	<10	<10	<10	1,4×10 ⁴	-	1,8×10 ³	-	<10	<10	<10	<10
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	2,4×10 ²	<10	<10	<10	<10
Esporos aeróbios psicrótrófos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	<3	4	4	<3	1,5×10 ¹	<3	<3	7	4	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Esporos anaeróbios psicrótrófos (NMP/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Bolores e leveduras (UFC/g)	<10	<10	6,0×10 ¹	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXO 7

**Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem a 4 e 10°C no escuro na embalagem
Bisnaga Coex
1º Processamento**

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)												
	1	14		32		46		60		74		90	
	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Microrganismos psicrotróficos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Bolores e leveduras (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXO 8

Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem a 4 e 10°C no escuro na embalagem Bisnaga Coex 2º Processamento

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)																
	1	17		32		46		60		74		90		147		180	
	4 ⁰ C	10 ⁰ C	4°C	10 ⁰ C	4°C	10 ⁰ C	4°C	10 ⁰ C	4°C	10 ⁰ C	4°C	10 ⁰ C	4°C	10 ⁰ C	4°C	10 ⁰ C	4°C
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	<10	<10	1,0×10 ¹	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Microrganismos psicrotróficos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	1,8×10 ³	1,2×10 ²	<10	<10	4,7×10 ²	<10	<10
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	3,2×10 ²	<10	<10	<10
Esporos aeróbios psicrotróficos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	<3	4,3×10 ¹	1,4×10 ¹	<3	<3	<3	<3	7	7	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Esporos anaeróbios psicrotróficos (NMP/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Bolores e leveduras (UFC/g)	<10	<10	1,0×10 ¹	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	9,6×10 ²	<10	<10

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXO 9

Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem a 4 e 10°C no escuro na embalagem Bisnaga PE 1º Processamento

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)												
	1	14		32		46		60		74		90	
	4 ⁰ C	10 ⁰ C	4 ⁰ C	10 ⁰ C	4 ⁰ C	10 ⁰ C	4 ⁰ C	10 ⁰ C	4 ⁰ C	10 ⁰ C	4 ⁰ C	10 ⁰ C	4 ⁰ C
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Microrganismos psicrotróficos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Bolores e leveduras (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXO 10

Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem a 4 e 10°C no escuro na embalagem Bisnaga PE 2º Processamento

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)																
	1	17		32		46		60		74		90		147		180	
	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C	10°C	4°C
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	1,1×10 ²	7,1×10 ²	<10	<10	<10	<10
Microrganismos psicrotróficos (UFC/g)	1,6×10 ²	1,8×10 ²	2,0×10 ¹	<10	1,0×10 ¹	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	1,0×10 ⁴	4,6×10 ³	<10	<10
Esporos aeróbios psicrotróficos (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	5,2×10 ²	3,0×10 ²	<10	<10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	<3	9	2,0×10 ¹	<3	<3	4	<3	<3	<3	<3	<3	4	2,4×10 ²	<3	<3	<3	<3
Esporos anaeróbios psicrotróficos (NMP/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Bolores e leveduras (UFC/g)	<10	1,6×10 ¹	<10	7,0×10 ¹	1,1×10 ¹	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	1,5×10 ³	<10	<10

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXO 11

Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem na luz e no escuro na embalagem Copo VAF 4º Processamento

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)															
	0		4		14		20		28		35		48		63	
	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	1,1x10 ¹	6,0x10 ¹	1,0x10 ¹	< 10	1,0x10 ¹	2,0x10 ¹	2,0x10 ¹	2,4x10 ³	2,0x10 ¹	4,4x10 ³	1,9x10 ³	6,7x10 ³	1,4x10 ³	< 10	< 10	
Microrganismos psicrótrófos (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	5,6x10 ³	< 10	< 10	< 10	
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	7,0x10 ¹	7,0x10 ¹	1,0x10 ³	4,0x10 ¹	1,0x10 ¹	1,0x10 ¹	1,0x10 ¹	3,0x10 ¹	1,2x10 ²	1,0x10 ¹	< 10	1,0x10 ¹	< 10	< 10	1,0x10 ¹	
Esporos aeróbios psicrótrófos (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	<3	<3	< 3	< 3	< 3	<3	< 3	<3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	
Esporos anaeróbios psicrótrófos (NMP/g)	<3	<3	< 3	< 3	< 3	<3	< 3	<3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	
Bolores e leveduras (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	1,0x10 ¹	1,0x10 ¹	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	1,2x10 ²	

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXO 12

Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem na luz e no escuro na embalagem Copo VAF Normal 5º Processamento

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)													
	0	7	14	21		28		34	45		56	63	77	91
	escuro	luz	luz	luz	escuro	luz	escuro	luz	luz	escuro	escuro	luz	escuro	escuro
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	1,0x10 ¹	1,0x10 ¹	2,0x10 ¹	3,0x10 ¹	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
Microrganismos psicrótróficos (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	2,0x10 ¹	2,5x10 ²	< 10	< 10	3,0x10 ¹	< 10	1,0x10 ¹	< 10	5,5x10 ²	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
Esporos aeróbios psicrótróficos (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Esporos anaeróbios psicrótróficos (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Bolores e leveduras (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	1,0x10 ¹	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	1,1x10 ³	< 10	< 10	< 10

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXO 13

Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem na luz na embalagem Copo VAF Invertido 5º Processamento

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)						
	7	14	21	28	45	56	63
	luz	luz	luz	luz	luz	luz	luz
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	$2,0 \times 10^1$	< 10	< 10	$1,0 \times 10^1$	< 10	< 10	< 10
Microrganismos psicotróficos (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	< 10	$1,0 \times 10^1$	< 10	$1,0 \times 10^1$	< 10	$4,0 \times 10^1$	< 10
Esporos aeróbios psicotróficos (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Esporos anaeróbios psicotróficos (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Bolores e leveduras (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	$2,8 \times 10^2$	< 10

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXO 14

Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem na luz e no escuro na embalagem Copo VS 4º Processamento

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)															
	0		4		14		20		28		35		48		63	
	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	3,0X10 ¹	6,0X10 ¹	3,0X10 ¹	5,0X10 ¹	8,5X10 ¹	7,0X10 ¹	4,0X10 ¹	8,0X10 ¹	1,0X10 ¹	< 10	1,2X10 ³	3,4X10 ⁴	< 10	< 10	4,0X10 ⁴	
Microrganismos psicrótróficos (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	5,4X10 ³	< 10	< 10	5,3X10 ³	
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	2,0X10 ¹	1,0X10 ¹	1,0X10 ¹	1,0X10 ¹	3,9X10 ²	2,0X10 ¹	7,5X10 ¹	2,2X10 ¹	1,2X10 ²	< 10	< 10	< 10	1,0X10 ¹	< 10	7,0X10 ¹	
Esporos aeróbios psicrótróficos (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	
Esporos anaeróbios psicrótróficos (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	
Bolores e leveduras (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	3,0X10 ¹	2,0X10 ¹	1,3X10 ²	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	1,0X10 ¹	

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXO 15

Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem na luz e no escuro na embalagem Pote PP 4º Processamento

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)															
	0		4		14		20		28		35		48		63	
	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	< 10	2,0x10 ¹	< 10	1,0x10 ¹	1,0x10 ¹	< 10	1,0x10 ¹	3,0x10 ¹	2,0x10 ¹	3,5x10 ⁴	3,0x10 ¹	2,4x10 ²	< 10	< 10	< 10	
Microrganismos psicrotróficos (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	4,0x10 ⁴	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	8,6x10 ²	1,0x10 ¹	1,2x10 ³	1,0x10 ¹	5,0x10 ¹	3,0x10 ¹	7,0x10 ¹	6,0x10 ¹	2,8x10 ²	< 10	6,0x10 ¹	< 10	< 10	< 10	< 10	2,0x10 ¹
Esporos aeróbios psicrotróficos (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	
Esporos anaeróbios psicrotróficos (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	
Bolores e leveduras (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	1,0x10 ¹	< 10	< 10	< 10	1,0x10 ¹	< 10	< 10	< 10	< 10	

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXO 16

Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem na luz e no escuro na embalagem Pote PP 5º Processamento

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)											
	0	7	14	21	28	34	45	56	63	77	91	
	escuro	luz	luz	escuro	escuro	luz	escuro	escuro	luz	escuro	escuro	escuro
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	< 10	1,0X10 ¹	< 10	< 10	1,0X10 ¹	1,0X10 ²	< 10	< 10	1,6X10 ²	< 10	< 10	4,0X10 ¹
Microrganismos psicrótróficos (UFC/g)	2,0X10 ¹	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	1,0X10 ¹	1,0X10 ¹	1,0X10 ²	2,0X10 ¹	1,0X10 ¹	< 10	< 10	< 10	< 10
Esporos aeróbios psicrótróficos (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Esporos anaeróbios psicrótróficos (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Bolores e leveduras (UFC/g)	1,0X10 ¹	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	4,0X10 ¹	< 10	< 10	< 10	< 10	1,0X10 ¹

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXO 17

**Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem na luz e no escuro na embalagem
Bisnaga Coex
4º Processamento**

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)										
	0	4		14	20	28		35		48	63
	escuro	luz	escuro	luz	luz	luz	escuro	luz	escuro	escuro	luz
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	2,0X10 ¹	2,0X10 ¹	3,0X10 ¹	< 10	< 10	2,0X10 ¹	< 10	2,0X10 ¹	1,2X10 ²	< 10	< 10
Microrganismos psicrotróficos (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	6,4X10 ²	< 10
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	4,0X10 ¹	1,0X10 ¹	2,0X10 ¹	1,1X10 ²	1,0X10 ¹	1,4X10 ²	3,5X10 ²	5,0X10 ²	3,2X10 ³	1,0X10 ¹	4,0X10 ¹
Esporos aeróbios psicrotróficos (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Esporos anaeróbios psicrotróficos (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Bolores e leveduras (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	3,0X10 ¹	<10	< 10	1,0X10 ¹	< 10	< 10	< 10

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXO 18

Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem na luz e no escuro na embalagem Bisnaga Coex 5º Processamento

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)														
	0	7	14	21		28		34	45	56		63		77	91
	escuro	luz	luz	luz	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz	escuro	luz	escuro	escuro	escuro
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	< 10	1,0x10 ¹	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	1,0x10 ¹	1,0x10 ²	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	1,0x10 ¹
Microrganismos psicrotróficos (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	< 10	3,7X10 ²	1,0X10 ¹	2,0X10 ¹	1,0X10 ¹	< 10	2,0X10 ¹	< 10	3,0X10 ¹	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
Esporos aeróbios psicrotróficos (UFC/g)	<10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Esporos anaeróbios psicrotróficos (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Bolores e leveduras (UFC/g)	< 10	< 10	1,6X10 ⁴	< 10	< 10	1,0X10 ¹	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXO 19

Contagens de microrganismos no Requeijão Cremoso durante a estocagem na luz e no escuro na embalagem Bisnaga PE 4º Processamento

Microrganismos	Tempo de estocagem (dias)								
	0	4		14	20	28	35	49	63
	escuro	luz	escuro	luz	luz	escuro	escuro	escuro	luz
Microrganismos mesófilos (UFC/g)	$7,5 \times 10^1$	< 10	$1,0 \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$	$3,0 \times 10^1$	$1,2 \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$	< 10	< 10
Microrganismos psicrotróficos (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
Esporos aeróbios mesófilos (UFC/g)	$1,2 \times 10^1$	$2,0 \times 10^1$	$1,2 \times 10^2$	$5,1 \times 10^2$	$2,6 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$	$7,0 \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$	$1,2 \times 10^1$
Esporos aeróbios psicrotróficos (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
Esporos anaeróbios mesófilos (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Esporos anaeróbios psicrotróficos (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Bolores e leveduras (UFC/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	$1,0 \times 10^1$	< 10	< 10	< 10	< 10

UFC: Unidades formadoras de colônias

NMP: Número mais provável

ANEXOS

Análises estatísticas - qualidade global

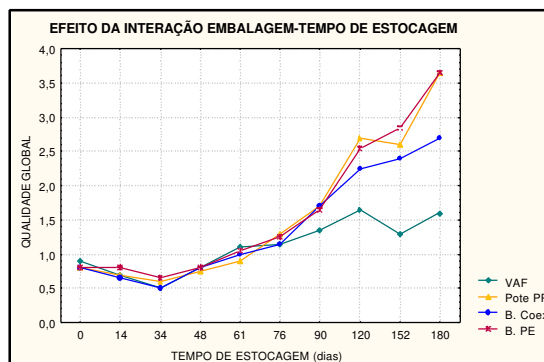
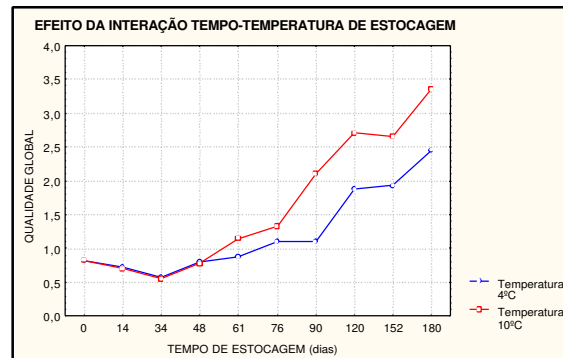
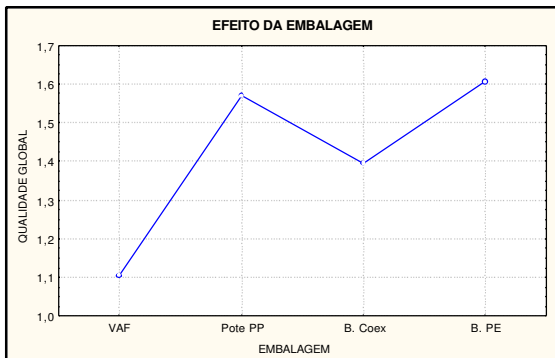
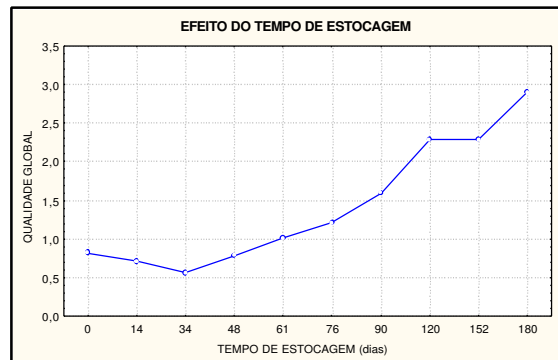
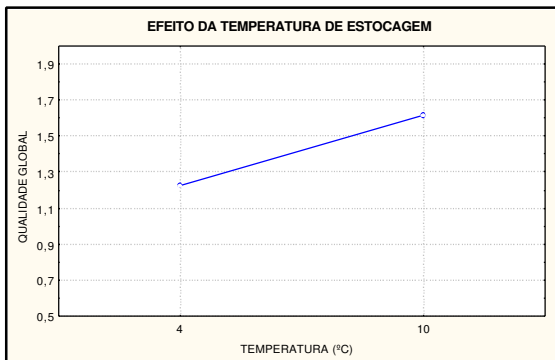
ANEXO 20

Análise de variância dos resultados de qualidade global de Requeijão Cremoso durante 180 dias de estocagem a 4 e 10°C no escuro

2º Processamento (sem VS)

Efeito	p-nível
Temperatura	$1,86 \times 10^{-6}$
Embalagem	$2,28 \times 10^{-5}$
Tempo de Estocagem	$6,75 \times 10^{-16}$
Interação: Temperatura x Embalagem	0,098
Interação: Temperatura x Tempo de Estocagem	0,001
Interação: Embalagem x Tempo de Estocagem	0,002

P – nível de significância atingido pelo experimento



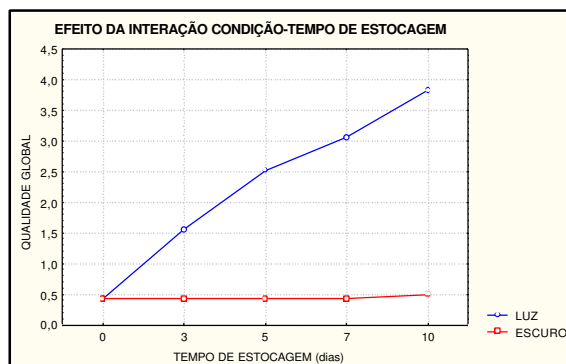
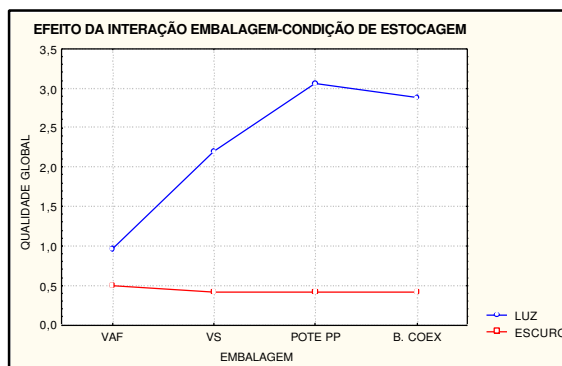
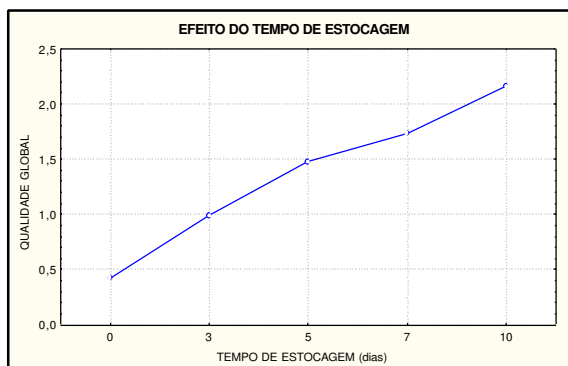
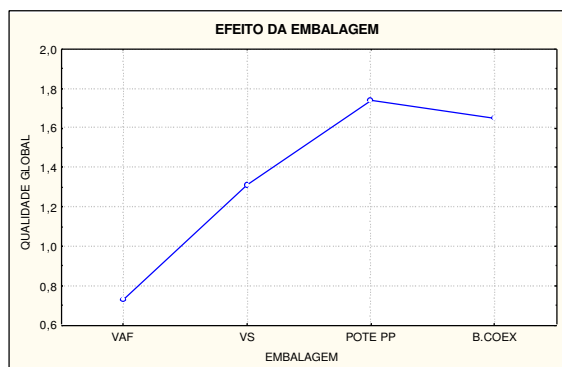
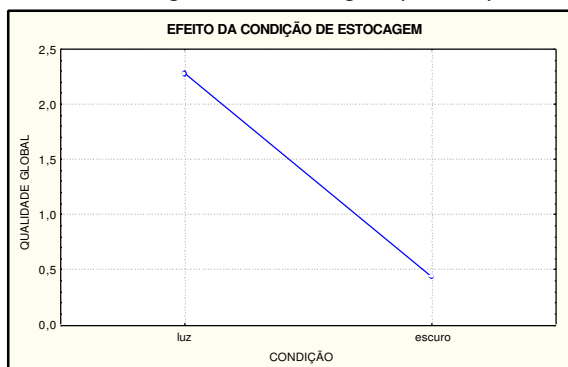
ANEXO 21

Análise de variância dos resultados de qualidade global de Requeijão Cremoso durante 10 dias de estocagem a 10oC na luz e no escuro

4º Processamento (sem B. PE)

Efeito	p-nível
Condição	$1,29 \times 10^{-7}$
Embalagem	0,004
Tempo de Estocagem	$2,57 \times 10^{-4}$
Interação: Condição x Embalagem	0,002
Interação: Condição x Tempo de Estocagem	$3,56 \times 10^{-4}$
Interação: Embalagem x Tempo de Estocagem	0,453

P – nível de significância atingido pelo experimento



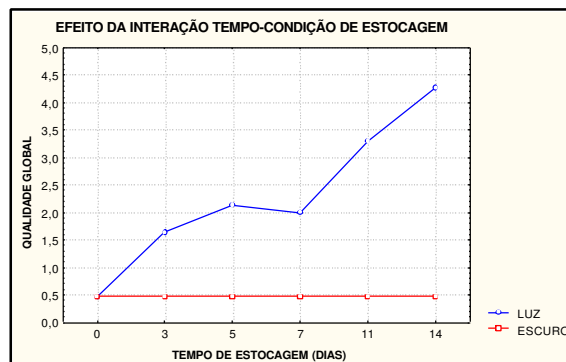
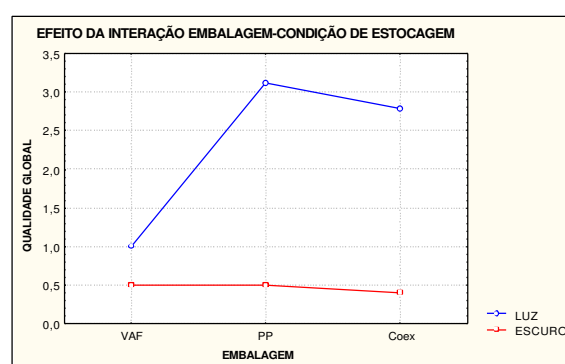
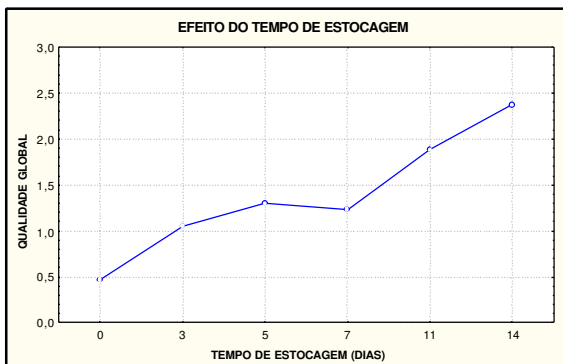
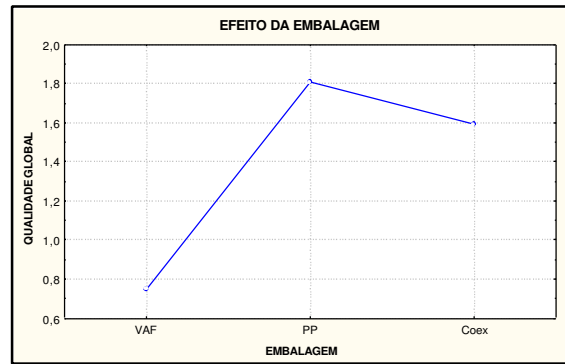
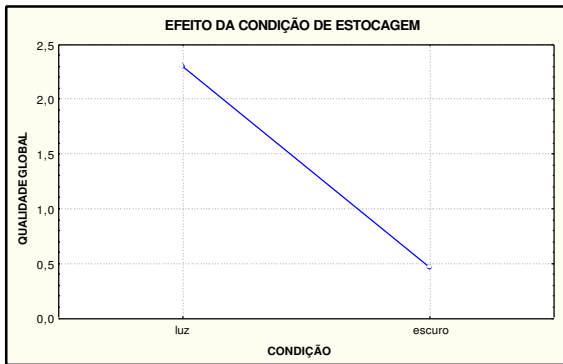
ANEXO 22

Análise de variância dos resultados de qualidade global de Requeijão Cremoso durante 14 dias de estocagem a 10oC na luz e no escuro

5º Processamento

Efeito	p-nível
Condição	$6,36 \times 10^{-6}$
Embalagem	0,006
Tempo de Estocagem	0,006
Interação: Condição x Embalagem	0,004
Interação: Condição x Tempo de Estocagem	0,006
Interação: Embalagem x Tempo de Estocagem	0,500

P – nível de significância atingido pelo experimento



ANEXO 23

Análise de variância dos resultados de qualidade global de Requeijão Cremoso durante 55 dias de estocagem a 10oC na luz e no escuro (VAF normal X VAF invertido)

5º Processamento

Efeito	p-nível
Embalagem	0,800
Tempo de Estocagem	$1,01 \times 10^{-7}$

P – nível de significância atingido pelo experimento

