

Qualidade físico-química, microbiológica e identificação de compostos voláteis em amostras comerciais de queijo parmesão ralado

Physicochemical, microbiological quality and identification of volatile compounds in commercial samples of grated Parmesan cheese

Calidad fisicoquímica, microbiológica e identificación de compuestos volátiles en muestras comerciales de queso parmesano rallado

Recebido: 16/12/2021 | Revisado: 22/12/2021 | Aceito: 28/12/2021 | Publicado: 06/01/2022

Vinícius Moura Andrade

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2098-6546>

Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Brasil

E-mail: viniciusmourandrade@yahoo.com.br

Ana Maria de Resende Machado

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1587-5024>

Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Brasil

E-mail: anamariaderesendemachado@gmail.com

Fátima de Cássia Oliveira Gomes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7358-7154>

Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Brasil

E-mail: fatimaog@cefetmg.br

Resumo

O queijo parmesão é consumido pela população na forma ralada, o que tem proporcionado uma maior opção de marcas do produto no mercado. No entanto, o queijo é um produto susceptível a contaminações, oferecendo riscos à Saúde Pública. Poucos estudos sobre esse assunto têm sido publicados na literatura, tornando-se importante averiguar a qualidade dos produtos disponíveis no mercado. Assim, o trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica, determinar o teor de umidade e o perfil de compostos voláteis de diferentes amostras embaladas e a granel de queijo parmesão ralado, disponíveis no comércio, verificando se os produtos atendem aos padrões estabelecidos pela legislação. Em relação a umidade, observou-se que 50% das amostras apresentaram valores acima do permitido (20 g/100 g). Nas análises microbiológicas verificou-se que 70% das amostras estavam impróprias para o consumo com contagens acima do permitido pela legislação para bolores e leveduras, *Staphylococcus* spp. e coliformes totais. Em algumas amostras foram identificadas a presença de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*, mas não ultrapassaram o padrão estabelecido pela legislação. A análise dos compostos voláteis permitiu a identificação de 31 compostos de diferentes classes como cetonas (7), ésteres (7), ácidos carboxílicos (6), aldeídos (4), álcoois (2), lactonas (2), hidrocarboneto aromático (1), terpeno (1) e triacetina (1). Observou-se variação na composição química entre os queijos embalados e a granel. Essas variações podem ser observadas na falta de uniformidade das amostras o que requer a necessidade de uma fiscalização mais eficiente pelos órgãos oficiais e melhorias nas condições higiênicas durante a fabricação.

Palavras-chave: Análises da qualidade; Queijo parmesão; Compostos voláteis.

Abstract

Parmesan cheese is consumed by the population in grated form, which has provided a greater choice of product brands on the market. However, cheese is a product susceptible to contamination, offering risks to public health. Few studies on this subject have been published in the literature, making it important to check the quality of products available on the market. Thus, the work aimed to evaluate the microbiological quality, determine the moisture content and the profile of volatile compounds of different packaged and bulk samples of grated parmesan cheese, available on the market, checking if the products meet the standards established by legislation. Regarding moisture, it was observed that 50% of the samples presented values above the permitted (20 g/100 g). In the microbiological analysis it was found that 70% of the samples were unfit for consumption with counts above those allowed by the legislation for molds and yeasts, *Staphylococcus* spp. and total coliforms. In some samples the presence of thermotolerant coliforms and *Escherichia coli* were identified, but they did not exceed the standard established by legislation. The analysis of volatile compounds allowed the identification of 31 compounds from different classes such as ketones (7), esters (7), carboxylic acids (6), aldehydes (4), alcohols (2), lactones (2), aromatic hydrocarbons (1), terpene (1) and triacetin (1). There was a variation in the chemical composition between packaged and bulk cheeses. These variations can be

observed in the lack of uniformity of the samples, which requires the need for more efficient inspection by official bodies and improvements in hygienic conditions during manufacturing.

Keywords: Quality analysis; Parmesan cheese; Volatile compounds.

Resumen

El queso parmesano es consumido por la población en forma rallada, lo que ha proporcionado una mayor variedad de marcas de productos en el mercado. Sin embargo, el queso es un producto susceptible de contaminación, que presenta riesgos para la Salud Pública. Se han publicado pocos estudios sobre este tema en la literatura, por lo que es importante verificar la calidad de los productos disponibles en el mercado. Así, el trabajo tuvo como objetivo evaluar la calidad microbiológica, determinar el contenido de humedad y el perfil de compuestos volátiles de diferentes muestras envasadas y a granel de queso parmesano rallado, disponibles en el mercado, comprobando si los productos cumplen con los estándares establecidos por la legislación. En relación a la humedad, se observó que el 50% de las muestras presentaron valores por encima de los permitidos (20 g / 100 g). En el análisis microbiológico se encontró que el 70% de las muestras no eran aptas para el consumo con recuentos superiores a los permitidos por la legislación para mohos y levaduras, *Staphylococcus* spp. y coliformes totales. En algunas muestras se identificó la presencia de coliformes termotolerantes y *Escherichia coli*, pero no superaron el estándar establecido por la legislación. El análisis de compuestos volátiles permitió identificar 31 compuestos de diferentes clases como cetonas (7), ésteres (7), ácidos carboxílicos (6), aldehídos (4), alcoholes (2), lactonas (2), hidrocarburos aromáticos (1), terpeno (1) y triacetina (1). Hubo una variación en la composición química entre los quesos envasados y a granel. Estas variaciones se pueden observar en la falta de uniformidad de las muestras, lo que obliga a una inspección más eficiente por parte de organismos oficiales y mejoras en las condiciones higiénicas durante la fabricación.

Palabras clave: Análisis de calidad; Queso parmesano; Compuestos volátiles.

1. Introdução

O consumo de queijos no Brasil teve um crescimento nos últimos anos, sendo que, até o início de 2018, era de 5,5 kg por habitante. A projeção do mercado definida pela Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ), é que até 2020 o consumo anual alcance 7,5 kg por habitante, ampliando, assim, a venda de queijos nacionais (Caetano, 2018). Com o aumento do consumo, cresce também a preocupação com a qualidade dos produtos comercializados (Ribeiro et al., 2012). Em função disso, existe uma legislação nacional que estabelece os padrões de identidade e requisitos mínimos de qualidade físico-química e microbiológica que o queijo deve cumprir para ser considerado seguro para o consumidor (Brasil, 1996).

No Brasil, o queijo parmesão é o primeiro entre as variedades de queijos especiais mais vendidos, sendo geralmente consumido pela população na forma ralada, o que tem proporcionado maiores opções de marcas comerciais deste produto no mercado. No entanto, a falta de controle de qualidade adequada e a supervisão por agências governamentais, o processamento do queijo parmesão não segue um protocolo padronizado, o que resulta na disponibilidade de muitos produtos diferentes no mercado nacional, podendo comprometer a qualidade (Ribeiro et al., 2012, Pereira et al., 2016). No caso do queijo parmesão ralado, a adição de até 25% m m⁻¹ de outros tipos de queijos secos é permitida no Brasil, o que propicia misturas de diferentes tipos de queijos (Brasil, 1997a; Trombete et al., 2012). A contaminação do queijo com patógenos pode ocorrer durante as várias etapas de fabricação e de diversas fontes (Prates et al., 2017). Com isso, há a necessidade de conscientização dos profissionais para a implantação de programas de Boas Práticas de Fabricação e controle dos seus processos (Perry, 2004).

Uma das características mais importantes, do ponto de vista dos consumidores, e que determina a qualidade do queijo é o *flavour* (Lee et al., 2003). A composição química, a textura e os aromas dos queijos dependem da atividade microbiana, das características do leite utilizado e do processo de fabricação do queijo. Dessa forma, as diferentes populações microbianas utilizadas na produção do queijo são responsáveis por reações bioquímicas variadas que geram aromas e sabores característicos ao produto. Logo, determinar os compostos voláteis presentes em determinada variedade de queijo auxilia na padronização do produto, melhoria na qualidade e valorização no mercado (Bertuzzi et al., 2018).

A análise dos componentes voláteis de um queijo é um procedimento complexo que incluem técnicas de extração, concentração, separação cromatográfica, identificação ou quantificação. Para melhor extrair os compostos voláteis em queijos é necessário retirar possíveis interferentes como, proteínas não voláteis, lipídeos, carboidratos e água. Entre as técnicas que têm

sido empregadas para a análise de compostos voláteis em queijos, incluem a extração com solventes, microextração em fase sólida (SPME) e microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) (Bertuzzi et al., 2018).

Como observado, o queijo ralado está susceptível a contaminações em sua cadeia produtiva, tornando o produto impróprio para o consumo. Contudo, poucos estudos sobre este assunto foram publicados, tornando-se importante averiguar a qualidade dos produtos disponíveis para os consumidores (Trombete; Fraga; Saldanha, 2012). Assim, o trabalho teve por objetivos avaliar a qualidade físico-química, microbiológica bem como obter o perfil de compostos voláteis de diferentes amostras de queijo parmesão ralado, disponíveis no comércio.

2. Metodologia

O trabalho correspondeu a atividades de laboratório, com a extração e a identificação dos constituintes voláteis de amostras bem como a caracterização físico-química e microbiológica dos queijos. Além disso, caracterizou-se como uma pesquisa descritiva, pois, segundo Oliveira (2011), levou em consideração a observação, o registro e a análise dos objetos de estudo e sua relação com outros fenômenos.

2.1 Coleta das amostras

Vinte amostras de queijo parmesão ralado foram coletadas em comércios de Belo Horizonte e região metropolitana (MG) sendo dez amostras a granel de diferentes estabelecimentos (G1-G10) e dez amostras de diferentes marcas embaladas (E1-E10). As amostras coletadas foram transportadas ao Laboratório de Análises, do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, onde foram acondicionadas e refrigeradas para a realização das análises microbiológicas e físico-químicas. Todas as análises foram realizadas observando-se o prazo de validade das amostras (Brasil, 2003).

2.2 Determinação do teor de umidade

A determinação da umidade foi baseada na metodologia descrita pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2019). Realizou-se triplicata das análises.

2.3 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas dos queijos foram realizadas de acordo com a metodologia descrita pela Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003 (Brasil, 2003). Foram analisados os microrganismos mesófilos aeróbicos, bolores e leveduras; coliformes totais, termotolerantes, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* spp. Antes da abertura da amostra, as embalagens foram desinfetadas usando etanol 70%.

2.4 Determinação do perfil de compostos voláteis

A extração e concentração dos compostos voláteis foi realizada utilizando-se a DLLME seguida de análise por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas para identificação e detecção. Na extração prévia dos compostos voláteis utilizou-se 3,0 g de amostra misturadas com 3,0 mL de acetona. A amostra foi agitada por um minuto e o sistema foi colocado em um banho ultrassônico por 15 minutos e centrifugada a 3000 rpm por 2 min (Hu et al., 2009; Liu et al, 2011).

Para o processo de microextração por DLLME, adicionou-se 4,0 mL de uma solução de cloreto de sódio 6% m m⁻¹ e 1,0 mL do extrato cetônico obtido na extração prévia com 300 µL de acetato de etila. Depois de agitar vigorosamente por um minuto, a mistura foi centrifugada por 3 min a 3000 rpm. A fase orgânica foi injetada em cromatógrafo gasoso (Liu et al, 2011; Alshana; Goger; Ertas, 2013).

Para identificação dos compostos extraídos foi utilizado um cromatógrafo gasoso (Sistema Agilent Technologies 7890A GC) acoplado a um espectrômetro de massas (Sistema Agilent 5975C) e uma coluna HP5-MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm). 2 µL da amostra foi injetado no modo *splitless*, com 3 min de equilíbrio e o injetor foi mantido a uma temperatura de 220 °C. A programação da temperatura do forno de cromatógrafo iniciou-se a 40 °C por 3 minutos, seguida de um aumento da rampa de 5 °C min⁻¹ até 70 °C seguido, novamente, de um aumento da rampa a 10 °C min⁻¹ até 210 °C, mantendo-a por 7 min, com um tempo total de corrida de 31 min. (Lee et al., 2003).

A identificação de compostos voláteis foi baseada na comparação de seus espectros de massas com os de compostos previamente analisados, e que consta no Banco de Dados Espectral de Massas NIST (Versão 2014), ou espectros publicados em periódicos (NIST, 2019). Para confirmar a identidade de cada substância, o Índice de Kovats (IK) foi calculado usando os tempos de retenção de uma série homóloga de n-alcenos C7-C33 nas mesmas condições (Adams, 2007; Lee et al., 2003; Bezerra et al., 2016).

3. Resultados e Discussão

3.1 Análise de Umidade

Os teores de umidade para as amostras de queijo parmesão ralado embaladas e a granel estão indicados na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores médios da análise de umidade das amostras comerciais de queijo parmesão ralado, embaladas e a granel.

Amostra	Umidade (g 100 g ⁻¹)	Amostra	Umidade (g 100 g ⁻¹)
E1	14,97 ± 0,44	G1	32,67 ± 0,29
E2	17,06 ± 1,00	G2	33,35 ± 1,04
E3	13,45 ± 0,32	G3	32,56 ± 0,11
E4	16,97 ± 0,39	G4	30,38 ± 0,97
E5	15,60 ± 0,05	G5	33,91 ± 0,37
E6	13,16 ± 0,70	G6	26,54 ± 0,25
E7	16,77 ± 0,47	G7	33,50 ± 0,09
E8	15,39 ± 0,56	G8	29,39 ± 1,25
E9	19,58 ± 1,27	G9	27,03 ± 1,71
E10	14,87 ± 0,68	G10	32,84 ± 0,56
Legislação		20	

E – Amostras de queijo parmesão embaladas; G – Amostras de queijo parmesão a granel.
Fonte: Elaborado pelos autores.

De acordo com os resultados, todas as amostras embaladas atenderam ao padrão estabelecido pela legislação vigente, com valores variando entre 13,16 g/100 g a 19,58 g/100 g, apresentando valor médio de 15,78 g 100 g⁻¹. Em contrapartida, as amostras a granel apresentaram um teor de umidade que variaram de 26,54 g 100 g⁻¹ a 33,50 g 100 g⁻¹, com valor médio correspondente a 31,22 g 100 g⁻¹, não atendendo a legislação. De acordo com a Portaria N° 357, de 4 de setembro de 1997 (Brasil 1997b), o “queijo ralado desidratado com predominância (> 50% m/m) de queijo de baixa umidade” deve apresentar no máximo 20 g 100 g⁻¹ de umidade.

Em trabalhos semelhantes, Pimentel et al. (2002) obtiveram um teor de umidade variando entre 10,16 g 100 g⁻¹ e 28,40 g 100 g⁻¹ para 18 amostras comerciais de queijo ralado empacotadas e observaram que 40% das amostras de queijo parmesão ralado não estavam de acordo com a legislação. Nunes et al. (2015), que avaliaram 19 marcas diferentes de queijo ralado comercializado na cidade de Recife (PE), constataram que 21% das amostras apresentavam não conformidade com a

legislação, com valores de umidade variando entre 9,81 a 21,88 g 100 g⁻¹, apresentando valor médio de 16,53 g 100 g⁻¹. Oliveira et al. (2012), no estudo de amostras de queijo parmesão ralado comercializadas em Juiz de Fora (MG) observaram que 20% das amostras estavam em desacordo com o limite estabelecido pela legislação para queijos de baixa umidade, com valor máximo de umidade de 33,76 g 100 g⁻¹.

Valores de umidade acima do permitido pela legislação podem caracterizar adulteração no produto, devido ao processamento incorreto ou ao armazenamento em condições inadequadas. Além disso, o excesso de água nas amostras pode propiciar o crescimento microbiano, comprometendo a segurança do alimento e proporcionando perdas econômicas (Pereira et al., 2016).

3.2 Análises microbiológicas

Os resultados das análises microbiológicas para bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras, coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* spp. estão apresentados na Tabela 2.

Em relação aos critérios microbiológicos, o queijo parmesão ralado deve estar de acordo com a Portaria nº 357, de 04 de setembro de 1997, em seu Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Queijo Ralado. A legislação preconiza limites para coliformes totais, coliformes termotolerantes, estafilococos coagulase positiva, *Salmonella* spp., fungos e leveduras, conforme a Tabela 2) (Brasil, 1997b).

Neste trabalho, foi utilizado o método de contagem de bactérias aeróbias mesófilas para fornecer uma indicação geral da população bacteriana total presente nas amostras de queijo do tipo parmesão. Essa técnica é usada para obter informações gerais sobre a qualidade do produto, controle de processo, práticas de fabricação, avaliação de matéria-prima e prazo de validade (Jaster et al., 2014).

No Brasil, as legislações específicas não estabelecem valores máximos para contagem de bactérias aeróbias mesófilas. No entanto, conforme pode ser observado na Tabela 2, foram obtidos resultados superiores a 10⁶ UFC g⁻¹ para as amostras de queijo parmesão ralado a granel e entre 10³ e 10⁵ UFC g⁻¹ para as amostras queijo parmesão ralado embaladas.

Os valores elevados para contagem de bactérias aeróbias mesófilas podem sugerir uma contaminação da matéria-prima e/ou condições de higiene inadequadas durante o manuseio e processamento do produto. Além disso, a presença elevada desses microrganismos pode aumentar a possibilidade de contaminação por microrganismos patogênicos e deteriorantes (Salvador et al., 2001). Jaster et al. (2014) realizaram o estudo da análise microbiológica de 12 marcas diferentes de queijos parmesão encontrados em supermercados de Campos Gerais (PR), entre os resultados obtidos verificou-se uma contagem de bactérias aeróbias mesófilas entre 10³ e 10⁴ UFC g⁻¹, sendo que apenas duas amostras apresentaram contagem superior a 10⁵ UFC g⁻¹.

Com relação a análise de bolores e leveduras, pode ser observada na Tabela 2, que entre as amostras embaladas de queijo parmesão ralado não foi identificada a presença desses microrganismos, estando de acordo com a legislação, considerando a Portaria Nº 357/1997 (Brasil, 1997b), a qual estabelece o limite de 5×10³ UFC g⁻¹ de bolores e leveduras para queijo ralado de baixa umidade. Ao contrário destas, todas as amostras de queijo parmesão ralado a granel apresentaram contagem superior ao limite de 5×10³ UFC g⁻¹ estabelecido pela legislação, com contagens variando entre 5,15 × 10³ e 3,20 × 10⁴ UFC g⁻¹ (Brasil, 1997b).

Tabela 2 - Resultados das análises microbiológicas das amostras comerciais embaladas e a granel de queijo parmesão ralado.

Amostra	Bactérias (UFC g ⁻¹)	Bolores e Leveduras (UFC g ⁻¹)	<i>Staphylococcus</i> spp. (UFC g ⁻¹)	Coliformes totais (NMP g ⁻¹)	Coliformes termotolerantes (NMP g ⁻¹)	<i>Salmonella</i> sp.
E1	4,50 × 10 ³	nd	2,25 × 10 ⁴	< 3	< 3	Ausência
E2	4,95 × 10 ³	nd	nd	< 3	< 3	Ausência
E3	6,50 × 10 ³	nd	3,50 × 10 ³	3	< 3	Ausência
E4	2,07 × 10 ⁴	nd	nd	3	< 3	Ausência
E5	1,20 × 10 ⁴	nd	nd	< 3	< 3	Ausência
E6	9,85 × 10 ³	nd	5,00 × 10 ²	< 3	< 3	Ausência
E7	3,52 × 10 ⁴	nd	nd	< 3	< 3	Ausência
E8	4,82 × 10 ⁵	nd	2,35 × 10 ⁴	< 3	< 3	Ausência
E9	4,63 × 10 ⁴	nd	nd	< 3	< 3	Ausência
E10	1,31 × 10 ⁵	nd	3,50 × 10 ⁵	< 3	< 3	Ausência
G1	2,70 × 10 ⁶	1,36 × 10 ⁴	4,10 × 10 ⁴	3	< 3	Ausência
G2	9,25 × 10 ⁶	2,60 × 10 ⁴	1,78 × 10 ⁵	< 3	< 3	Ausência
G3	7,30 × 10 ⁶	3,20 × 10 ⁴	2,05 × 10 ⁴	< 3	< 3	Ausência
G4	1,24 × 10 ⁷	1,32 × 10 ⁴	6,00 × 10 ⁴	3,6	< 3	Ausência
G5	1,90 × 10 ⁷	2,18 × 10 ⁴	1,10 × 10 ⁵	< 3	< 3	Ausência
G6	1,48 × 10 ⁷	5,15 × 10 ³	3,90 × 10 ⁴	16	3	Ausência
G7	1,02 × 10 ⁷	6,35 × 10 ³	8,00 × 10 ³	1100	460	Ausência
G8	2,15 × 10 ⁷	7,60 × 10 ³	1,62 × 10 ⁵	< 3	< 3	Ausência
G9	5,80 × 10 ⁷	2,19 × 10 ⁴	2,07 × 10 ⁵	6,2	6,2	Ausência
G10	1,83 × 10 ⁷	2,79 × 10 ⁴	7,60 × 10 ⁴	11	6,1	Ausência
VMP*	-	5,0 × 10³	1,0 × 10³	1000	500	Ausência

E – amostras embaladas; G – amostras a granel; nd – não detectado. *VMP - Valores máximos permitidos pela Portaria Nº 357 (Brasil, 1997b). Fonte: Elaborado pelos autores.

Em termos comparativos, observa-se que as amostras de queijo parmesão a granel apresentaram uma contaminação de bolores e leveduras maior que as amostras embaladas. Estes resultados estão coerentes com o baixo valor de umidade (Tabela 1) e a presença de conservantes encontrados nas amostras embaladas em oposição ao elevado teor de umidade e a ausência de ácido sórbico, antifúngico normalmente utilizado na indústria de alimentos, nas amostras a granel. Tais fatores, associados a condições higiene inadequadas podem ter favorecido o crescimento desses microrganismos.

Em um trabalho semelhante, Pereira et al. (2016) realizaram a análise microbiológica de bolores e leveduras em amostras de queijo parmesão ralado de oito marcas comercializadas nos estados de Minas Gerais e do Espírito Santo, e constataram que 12,5% das amostras avaliadas apresentaram contagens acima do limite estabelecido pela legislação. Em outro trabalho, Nunes et al. (2015), avaliaram a qualidade microbiológica do queijo ralado comercializado em Recife (PE), e verificaram que 42% das amostras apresentavam contagens de bolores e leveduras acima do limite tolerado.

Alguns fungos encontrados em queijo parmesão podem ser produtores de micotoxinas, que são substâncias potencialmente carcinogênicas, destacando-se *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (Nunes et al., 2015; Pereira et al., 2016).

Entre as amostras embaladas, não se obtiveram contagens acima do valor estabelecido pela legislação para coliformes totais e termotolerantes (Tabela 2). Para as amostras a granel de diferentes estabelecimentos, apenas uma (G7) apresentou um valor para coliformes totais (35°C) (1100 NMP g⁻¹) acima do padrão estabelecido pela legislação (1000 NMP g⁻¹). No entanto, a amostra não apresentou contagem de coliformes termotolerantes (45°C) superior ao limite da legislação.

Correlacionando este resultado com o teor de umidade obtido nas amostras (Tabela 1), observa-se que a amostra G7 apresentou o maior teor de umidade ($33,50 \pm 0,09$ g/100 g⁻¹), sendo superior ao valor máximo para queijos de baixa umidade estabelecidos pela legislação (20 g /100 g⁻¹), o que associado com um processo de fabricação em condições insalubres, como a falta de higiene adequada no manuseio e processamento dos produtos, provavelmente proporcionou o crescimento desses microrganismos.

Em outro trabalho, Nunes et al. (2015), por meio das análises microbiológicas do queijo ralado comercializado em Recife (PE), observou que 5,26% das amostras apresentaram coliformes totais e coliformes termotolerantes, com contagens de 30 NMP/g e 9,2 NMP/g, respectivamente.

Em todos os tubos positivos para coliformes termotolerantes foram confirmados a presença de *Escherichia coli*, por meio da fluorescência sob luz UV. Dessa forma, apesar do valor de coliformes termotolerantes nas amostras G6, G9 e G10 não serem superiores ao limite máximo estabelecido pela legislação, observa-se a presença de *Escherichia coli*, indicando que a amostra foi contaminada com bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e/ou outros animais de sangue quente (Silva et al., 2018).

Quanto à pesquisa de *Staphylococcus* spp., quatro amostras embaladas (40%) e todas as amostras a granel de diferentes estabelecimentos apresentaram contagem acima do valor estabelecido pela legislação específica ($1,0 \times 10^3$ UFC g⁻¹). As contagens variaram de $3,50 \times 10^3$ UFC g⁻¹ a $3,50 \times 10^5$ UFC g⁻¹ para as amostras embaladas e de $8,00 \times 10^3$ UFC g⁻¹ a $2,07 \times 10^5$ UFC g⁻¹ para as amostras a granel (Tabela 2). Os resultados obtidos para *Staphylococcus* spp. estão de acordo com o estudo realizado por Salvador et al. (2001), que encontraram em quatro amostras de queijo parmesão ralado valores entre 10^3 e 10^4 UFC g⁻¹ para *Staphylococcus* spp., estando acima do permitido pela Portaria n° 357 (Brasil, 1997b).

Comparando os resultados obtidos quanto à presença de conservantes nas amostras, é possível observar que nas amostras E1, E10 e em todas as demais amostras a granel não foram detectadas a presença de ácido sórbico por GC-MS, o que justifica o crescimento dos microrganismos.

A quantidade elevada de *Staphylococcus* spp. no queijo pode indicar contaminação da matéria-prima, falta de cuidados por parte dos produtores, a sanitização inadequada e a manipulação excessiva em condições higiênico-sanitárias ineficientes, tendo em vista que este microrganismo pode estar presente na mucosa nasal ou em ferimentos dos manipuladores (Ribeiro et al., 2012). A enterotoxina produzida pelos estafilococos é responsável por intoxicações alimentares, resultando em gastroenterite quando sua população atinge o número de 10^6 UFC g⁻¹ (Nunes et al., 2015).

De acordo com a Portaria n° 357, de 04 de setembro de 1997, em seu Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Queijo Ralado Regulamento Técnico, os queijos não devem possuir contaminação por *Salmonella* sp. (Brasil, 1997b), uma vez que é um patógeno potencial causador de infecção alimentar (Silva et al., 2018). Dentre as amostras de queijo parmesão ralado analisadas nenhuma apresentou contaminação pelo microrganismo (Tabela 2), estando em conformidade com os padrões da legislação vigente. O mesmo resultado foi encontrado em outros estudo sobre a qualidade microbiológica de queijo ralado (Trombete, Fraga e Saldanha 2012; Jaster et al. 2014; Nunes et al. 2015).

3.3 Determinação do perfil de compostos voláteis

Os compostos voláteis identificados nas vinte diferentes amostras de queijo parmesão ralado, embalado e a granel, utilizando a microextração DLLME e seguida de análise em GC-MS estão listados no Quadro 1. Trinta e um compostos voláteis foram detectados, como metil cetonas (7), ésteres (7), ácidos carboxílicos (6), aldeídos (4), álcoois (2), lactonas (2), hidrocarboneto aromático (1), terpeno (1) e triacetina.

Na análise comparativa entre as amostras de queijo parmesão ralado (Quadro 1), observa-se que entre as amostras embaladas a E3 apresentou o maior número de compostos (20), enquanto nas amostras a granel a G4 apresentou o maior

número de compostos (17). O número menor de compostos encontrados na amostra a granel pode estar relacionado com a maior quantidade de água nestas amostras, que interfere na extração e concentração dos compostos voláteis, uma vez que a água dilui as substâncias presentes na amostra e, também, causa a partição das classes químicas de acordo com a polaridade (Fox et al., 2017).

As amostras E4, E6, E10, G7 e G10 apresentaram os menores números de compostos identificados, variando entre oito e dez compostos. Neste caso, pode-se relacionar o número menor de compostos voláteis com a presença de um maior teor de lipídeos nas amostras, que foi observado nos tubos durante a microextração dispersiva e pela abundância maior de ácidos graxos identificados nestas amostras. Assim como a água, as proteínas e lipídeos são interferentes e podem afetar na extração dos compostos voláteis. Durante o preparo das amostras para a microextração observou que as amostras a granel apresentavam uma quantidade maior de gordura em relação as amostras embaladas. Os lipídeos podem agir como surfactantes diminuindo a tensão superficial e influenciando na superfície de contato dos solventes, dificultando a separação das fases e, conseqüentemente, o fator de concentração dos analitos de interesse (Quigley; Cummins; Connolly, 2016).

Outro fator que pode afetar a extração é a diferença da granulometria entre as amostras. As amostras a granel apresentavam uma granulometria maior que as amostras embaladas. Dessa forma, a superfície de contato da amostra e do solvente é maior nas amostras embaladas, podendo ter ocasionado uma extração mais efetiva dos analitos.

Os compostos voláteis encontrados no perfil cromatográfico das vinte amostras de queijo parmesão ralado (Quadro 1) estão de acordo com os compostos previamente identificados por outros autores (Barbieri et al., 1994; Qian; Reineccius, 2002; Lee et al., 2003; Bellesia et al., 2003; Qian; Reineccius, 2003; Langford et al., 2012). Dentre esses os principais compostos estão butanoato de etila, ácido butanóico, heptan-2-ona, hexanoato de etila, ácido hexanóico, nonan-2-ona, octanoato de etila, ácido octanóico, decanoato de etila, ácido decanóico, δ -decalactona e δ dodecalactona.

Barbieri et al. (1994) analisaram o perfil de voláteis de vinte e uma amostras de queijo parmesão de origem certificada utilizando as técnicas de concentração dinâmica por *headspace* e extração/destilação simultânea por GC e GC-MS. Cento e sessenta e sete compostos foram identificados dentre eles, hidrocarbonetos (23), aldeídos (19), cetonas (19), álcoois (29), ésteres (24) e ácidos (25). Pela técnica de *headspace* foram identificados os compostos mais voláteis, enquanto que a técnica de destilação-extração simultânea foi adequada para ácidos, ésteres e lactonas.

Qian e Reineccius (2002) isolaram e identificaram compostos voláteis do queijo parmesão por extração com solvente/destilação a alto vácuo, seguido de separação em frações ácidas, básicas, solúveis em água utilizando Cromatografia Gasosa acoplada a Olfatometria e Espectrometria de Massas (GC-O-MS). Os compostos odor-ativos identificados nos queijos incluem ácidos graxos de cadeia curta, ésteres, aldeídos, compostos de enxofre, alquilpirazinas e alquilpiridinas.

Quadro 1 - Compostos voláteis identificados nas amostras comerciais embaladas e a granel de queijo parmesão ralado.

Nº	Composto	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10
1	3-Hexen-2-ona	x	x	x		x		x	x			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
2	Butanoato de etila							x	x		x	x		x	x	x	x	x	x	x	x
3	Ácido butanoico		x	x	x	x	x	x		x	x				x	x	x		x	x	
4	Ácido 3-metilbutanoico		x		x																
5	Acetato de 1-metilbutila												x	x		x		x	x	x	x
6	Heptan-2-ona	x	x	x		x		x	x			x	x	x	x	x			x	x	x
7	Heptan-2-ol															x					
8	Etilbenzeno	x	x	x		x		x				x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
9	Hexanoato de etila			x	x		x	x	x		x	x		x	x		x		x		
10	D-Limoneno														x	x					
11	Ácido hexanoico	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x				x	x	
12	8-Nonen-2-one														x				x	x	
13	Nonan-2-ona	x	x	x		x		x	x	x		x	x	x	x	x		x	x	x	x
14	Nonanal	x		x					x	x											
15	Ácido sórbico		x	x	x	x	x	x	x	x											
16	(E)-2-Nonenal									x											
17	Álcool feniletílico													x			x				
18	Octanoato de etila			x				x	x		x	x	x	x	x		x		x	x	
19	Ácido octanoico	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	
20	Fenilacetaldéido		x	x		x															
21	Undecan-2-ona	x	x	x		x		x	x	x		x		x	x	x	x	x			
22	Triacetina								x				x				x				
23	Ácido decanoico		x	x	x	x	x	x		x	x				x		x				
24	Decanoato de etila			x			x	x	x		x	x	x	x	x	x	x		x	x	
25	Tridecan-2-ona	x	x	x		x			x	x											
26	δ-Decalactona	x	x	x		x		x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
27	Dodecanoato de etila			x	x		x	x	x		x										
28	Tetradecanal		x																		
29	2-Pentadecanona	x							x												
30	δ-Dodecalactona		x	x		x		x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
31	Tetradecanoato de etila			x	x		x	x	x		x										
Total de compostos		11	16	20	9	14	9	18	19	12	10	12	13	15	17	16	13	9	15	14	8

x – compostos detectados. E – amostras embaladas; G – amostras a granel. Fonte: Elaborado pelos autores.

Bellesia et al. (2003), analisaram os componentes voláteis do queijo parmesão por microextração em fase sólida (SPME) e Purge e Trap (PT), sendo encontrados oitenta e um compostos entre eles aldeídos, ácidos carboxílicos, álcoois, ésteres, cetonas, compostos aromáticos e hidrocarbonetos.

Observou-se que houve uma variabilidade da composição volátil das amostras de queijo parmesão ralado quanto as diferentes classes químicas identificadas. De modo geral, os ácidos graxos e seus ésteres etílicos foram as classes químicas mais abundantes para a maioria das amostras de queijo parmesão ralado, representando em algumas amostras mais de 60% da composição. Do mesmo modo, as cetonas apresentaram uma contribuição importante sendo a classe mais abundante para outras amostras como a E1 em que as cetonas representaram aproximadamente 55% da composição. As lactonas, apesar de contribuir com uma pequena parcela na composição total (entre 9% e 25%), estiveram presentes na maioria das amostras.

Barbieri et al. (1994) em uma análise dos compostos voláteis do queijo parmesão observou algo semelhante: a quantidade relativa de ácidos graxos nos extratos foi maior que a quantidade de acetonas.

As cetonas são constituintes comuns na maioria dos queijos. As diversas metil cetonas foram detectadas por diferentes técnicas para análise de compostos voláteis em queijo parmesão. No presente trabalho foram encontradas 7 cetonas: 3-hexen-2-ona, heptan-2-ona, 8-nonen-2-one, nonan-2-ona, undecan-2-ona, tridecan-2-ona e 2-pentadecanona (Quadro 1). Notas frutadas, florais e bolorentas estão associadas à presença das várias metil cetonas, como octan-2-ona, nonan-2-ona, decan-2-ona e undecan-2-ona, enquanto que as notas de queijo azul são atribuídas a heptan-2-ona (Curioni; Bosset, 2002). Estas mesmas substâncias foram identificadas por Qian e Reineccius (2003) onde a heptan-2-ona e nonan-2-ona foram as cetonas mais abundantes e que contribuem para o sabor frutado característico de um bom queijo parmesão. Já no trabalho de Barbieri et al. (1994) a pentan-2-ona e heptan-2-ona foram predominantes.

Comparando os resultados obtidos, observa-se que as cetonas como a 3-hexen-2-ona, heptan-2-ona, nonan-2-ona e undecan-2-ona foram identificadas simultaneamente tanto nas amostras embaladas de queijo parmesão quanto nas amostras a granel. Por outro lado, a 8-nonen-2-one foi identificada apenas em algumas amostras de queijo parmesão a granel (G2, G4, G5, G8 e G9); e as cetonas de massa molar mais elevada foram observadas apenas nas amostras embaladas, sendo a tridecan-2-ona nas amostras E1, E2, E3, E5, E8, E9 e a e pentadecan-2-ona nas amostras E1 e E8.

Nas amostras de queijo parmesão foram encontrados 5 ácidos graxos de cadeia curta e média sendo, ácido butanóico, ácido 3-metilbutanóico, ácido hexanóico, ácido octanóico e o ácido decanóico (Quadro 1). De forma semelhante ao estudo realizado por Concurso et al. (2008), os ácidos graxos com número par de átomos de carbono foram preponderantes em comparação com aqueles com um número ímpar.

Correlacionado as amostras embaladas e a granel de queijo parmesão, nota-se que os ácidos butanoico, hexanóico e octanóico foram os mais abundantes. Quanto a presença do ácido decanóico verifica-se que foi maior nas amostras embaladas, quando comparado com as amostras a granel. Com relação ao ácido 3-metilbutanóico foi detectado apenas nas amostras E2 e E4.

Em trabalhos que avaliaram as características sensoriais do queijo parmesão, demonstraram que os ácidos butanóico, hexanóico e octanóico apresentam odores com forte intensidade, contribuindo com aroma forte de suor, penetrante e gorduroso nesse queijo (Qian & Reineccius, 2002).

Na maioria das amostras embaladas de queijo parmesão foi identificado o ácido sórbico, exceto nas amostras E1 e E10. Em um trabalho semelhante, Lee et al. (2003) também detectaram a presença de ácido sórbico no parmesão. De acordo com a Portaria nº 357, o ácido sórbico e seus sais são conservantes permitidos nos queijos ralados na concentração máxima de 1000 mg kg⁻¹ (Brasil, 1997b). O ácido sórbico apresenta eficiência antimicrobiana reconhecida sendo utilizado na indústria de alimentos, como um eficiente inibidor de bolores e leveduras (Almeida, 2011).

Geralmente os ésteres etílicos são os compostos mais encontrados nesse tipo de queijo. Neste trabalho foram identificados butanoato de etila, acetato de 1-metilbutila, hexanoato de etila, octanoato de etila, decanoato de etila, dodecanoato de etila e o tetradecanoato de etila. Estes ésteres são voláteis e contribuem com notas doces, frutadas e florais percebido neste queijo. (Qian & Reineccius, 2002; Niimi et al., 2015).

Em uma análise geral, butanoato de etila, hexanoato de etila, octanoato de etila e o decanoato de etila foram os ésteres predominantes, sendo observado em mais de 55% das amostras de queijo parmesão ralado. Este resultado está coerente com a literatura, pois estes compostos representam os principais ésteres comumente identificados em muitas variedades de queijo. Os ésteres de cadeia longa, dodecanoato de etila e o tetradecanoato de etila estiveram presentes apenas nas amostras embaladas de queijo parmesão ralado (Fox et al., 2017).

Ao contrário de outros trabalhos, os álcoois foram compostos pouco abundantes nas amostras, sendo detectados, nas amostras a granel, apenas o heptan-2-ol (G5) e o álcool feniletílico (G3 e G6). Por serem muito polares os álcoois de cadeia curta podem ter ficado retidos na fase aquosa da DLLME, o que ocasionou a identificação de poucos compostos dessa classe. Dos álcoois secundários, o heptan-2-ol foi identificado como um odorante importante dos queijos. O álcool heptan-2-ol pode ser formado pela redução de metil cetona por meio da redutase microbiana como mecanismo de defesa contra toxicidade, como a heptan-2-ona (Qian & Reineccius, 2002). O álcool feniletílico está entre os álcoois aromáticos mais odoríferos, seu aroma muito agradável apresenta notas de rosas. No entanto, os álcoois são considerados de pouca importância para o aroma do parmesão, contribuindo com notas alcoólicas e frutadas fracas (Curioni & Bosset, 2002).

Comparados com os outros componentes voláteis, foram encontrados poucos aldeídos, entre eles o nonanal, (E)-2-nonenal, fenilacetaldeído e tetradecanal. É importante ressaltar que todos eles estiveram presentes apenas nas amostras embaladas de queijo parmesão ralado. Destes o mais abundante foi o nonanal que foi identificado em quatro amostras. Aldeídos de cadeia linear, como butanal, pentanal, hexanal e nonanal são comuns entre os queijos. Eles apresentam aromas de ervas verdes. No entanto, o aroma dos aldeídos de cadeia simples é desagradável quando suas concentrações excedem certos limites (Coda et al., 2006). Dentro deste grupo, o odorante mais comum é o nonanal, que foi encontrado no queijo parmesão. Além desses, destaca-se a forma insaturada (E)-2-nonenal que confere um sabor agradável ao queijo parmesão e o fenilacetaldeído, formado pela degradação da fenilalanina, que apresenta um odor forte nos queijos (Curioni & Bosset, 2002).

A presença de diferentes γ - e δ -lactonas pode ser considerada como importantes contribuintes do aroma neste queijo. δ -decalactona e a δ -dodecalactona foram identificadas na maioria das amostras analisadas de queijo parmesão ralado. As lactonas estão associadas a características pronunciadas de odor presente no queijo. Uma das lactonas mais comum e importante identificada no queijo é a δ -decalactona (Curioni & Bosset, 2002).

Alguns compostos aromáticos, como hidrocarbonetos, foram encontrados no queijo parmesão, porém não contribuem consideravelmente para o aroma. Neste trabalho foi identificado o etilbenzeno na maioria das amostras de queijo parmesão ralado. O mesmo resultado foi obtido por Barbieri et al. (1994).

Os terpenos são compostos importantes nos queijos fabricados em determinadas regiões. Eles são originários das plantas que constituem as pastagens. Dessa forma, são transferidos para o leite dos animais que pastam e, finalmente, para o queijo. Essa descoberta é importante para determinar a origem geográfica de um tipo de queijo e para os produtores que desejam reivindicar os direitos de nomeação específicos para queijos fabricados em uma área específica. Entre os terpenos mais frequentemente identificados estão o α -pineno e o linalol (Curioni & Bosset, 2002). Neste trabalho foi identificado o limoneno nas amostras G4 e G5. O mesmo composto foi encontrado em diferentes trabalhos que analisaram o perfil volátil do queijo parmesão, sendo característico por apresentar um aroma cítrico, leve e fraco (Barbieri et al., 1994; Lee et al., 2003; Bellesia et al., 2003).

Por fim, identificou-se a triacetina nas amostras E8, G2 e G5. Em estudos anteriores da análise de compostos voláteis de queijos italianos este composto foi relacionado como um produto de degradação da fabricação de filmes plásticos utilizado para embalar as amostras, e de acordo com esse estudo, não apresenta risco à saúde humana (Panseri et al., 2014).

4. Conclusão

Quanto ao teor de umidade das amostras de queijo parmesão ralado, observou-se que as amostras a granel não atenderam ao limite máximo estabelecido pela legislação, representando 50% de todas as amostras. Com relação às análises microbiológicas, verificou-se que dez amostras a granel (50%) e quatro amostras embaladas (20%) de queijo parmesão ralado ficaram fora dos limites estabelecidos pela legislação vigente, estando impróprias para o consumo.

Por meio da metodologia proposta neste trabalho identificaram-se 31 compostos voláteis de diversas classes químicas. Essa falta de uniformidade dos compostos voláteis nas diferentes amostras pode estar relacionada com a variabilidade do teor de umidade, com a granulometria e com o teor de lipídeos, observados durante o pré-tratamento das amostras para as análises cromatográficas. Neste contexto, a DLLME apresentou-se uma técnica promissora para a extração de compostos voláteis no queijo parmesão ralado, com um baixo consumo de solvente, tempos de extração rápidos, compatibilidade com a análise por cromatografia gasosa e identificação de uma grande variedade de compostos de diferentes classes químicas.

Portanto, avaliando-se a qualidade do queijo parmesão ralado ressalta-se a necessidade de uma fiscalização mais eficiente pelos órgãos oficiais de inspeção, melhorias no processo de fabricação e nas condições de higiene durante a fabricação, transporte e manuseio do produto, com implantação de programas de Boas Práticas de Fabricação e controle dos processos. Os dados apresentados aumentam o conhecimento sobre os fatores que influenciam as características intrínsecas e a qualidade de queijos produzidos no Brasil, podendo servir de instrumento para classificação e tomadas de decisões acerca de melhorias tanto em processos produtivos como possivelmente na legislação pertinente, em relação à caracterização, qualidade e padronização dos produtos, e também sob o ponto de vista de Saúde Pública.

Em pesquisas futuras novas marcas de queijos ralados serão analisadas com o intuito de ampliar o número de amostras, bem como realizar a análise de aceitação dos queijos e correlacionar com os principais compostos voláteis.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

Referências

- Adams, R. P. (2017). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. (4a ed.), Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 804p.
- Almeida, A. L. F. (2011). Conservantes químicos para alimentos. *Food Ingredients Brasil*, 18, 28-51. 2011. <<http://www.revista-fi.com/materias/186.pdf>>.
- Alshana, U., Goger, N. G., & Ertas, N. (2013). Dispersive liquid-liquid microextraction combined with field-amplified sample stacking in capillary electrophoresis for the determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in milk and dairy products. *Food Chemistry*, 138(2-3), 890-897. 10.1016/j.foodchem.2012.11.121
- Barbieri, G., Balzoni, L., Careri, M., Mangia, A., Parolari, G., Spagnoli, S., & Virgili, R. (1994). Study of the Volatile Fraction of Parmesan Cheese. *Journal Of Agricultural and Food Chemistry*, 42(5), 1170-1176. doi:10.1021/jf00041a023
- Bellesia, F., Pinetti, A., Pagnoni, Y. M., Rinaldi, R., Zucchi, C., Caglioti, L., & Palyi, G. (2003). Volatile components of Grana Parmigiano-Reggiano type hard cheese. *Food Chemistry*, 83(1), 55-61. 10.1016/s0308-8146(03)00037-2
- Bertuzzi, A. S., Mcsweeney, P. L. H., Rea, M. C., & Kilcawley, K. N. (2018). Detection of Volatile Compounds of Cheese and Their Contribution to the Flavor Profile of Surface-Ripened Cheese. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(2), 371-390. doi:10.1111/1541-4337.12332
- Bezerra, T. K. A., Araújo, A. R. R., Arcanjo, N. M. O., Silva, F. L. H., Queiroga, R. C. R. E., & Madruga, M. S. (2016). Optimization of the HS-SPME-GC/MS technique for the analysis of volatile compounds in caprine Coalho cheese using response surface methodology. *Food Science And Technology*, 36(1), 103-110. 10.1590/1678-457X.0035
- Brasil. Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAPA). (1996). Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. *Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos*. Diário Oficial da União, Brasília.
- Brasil. Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAPA) (1997a). Portaria nº 353, de 04 de setembro de 1997. *Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Queijo Parmesão*. Diário Oficial da União, Brasília.
- Brasil. Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAPA). (1997b). Portaria nº 353, de 04 de setembro de 1997. *Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Queijo Ralado*. Diário Oficial da União, Brasília.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). (2003). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. *Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água*. Diário Oficial da União, Brasília, 18 setembro 2003, sec. 1, p. 14.

- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). (2019). *Determinação de umidade em produtos de origem animal por gravimetria*. Diário Oficial da União, Brasília, DF.
- Caetano, M. (2018). Produção de queijo deve crescer 2,5% neste ano com aumento do consumo. São Paulo, *Diário Comercio Indústria & Serviços (DCI)*, 12 abr. 2018. Disponível em <https://www.dci.com.br/industria/producao-de-queijo-deve-crescer-25-neste-ano-com-aumento-do-consumo/2430/>: >. Acesso em: 25 set. 2020.
- Coda, R., Brechany, E., De Angelis, M., De Candia, S., Di Cagno, R., & Gobetti, M. (2006). Comparison of the Compositional, Microbiological, Biochemical, and Volatile Profile Characteristics of Nine Italian Ewes' Milk Cheeses. *Journal of Dairy Science*, 89(11), 4126-4143. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72458-4
- Condurso, C., Verzera, A., Romeo, V., Ziino, M., & Conte, F. (2008). Solid-phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry analysis of dairy product volatiles for the determination of shelf-life. *International Dairy Journal*, 18(8), 819-825. 10.1016/j.idairyj.2007.12.005
- Curioni, P. M. G., & Bosset, J. O. (2002). Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry. *International Dairy Journal*, 12(12), 959-984. doi:10.1016/S0958-6946(02)00124-3
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & Mcsweeney, P. L. H. (2017). *Fundamentals of Cheese Science*. (2a ed.), Springer, 799 p.
- Hu, J., Li, Y., Zhang, W., Wang, H., Huang, C., Zhang, M., & Wang, X. (2009). Dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-electron capture detection for determination of polychlorinated biphenyls in fish. *Journal of Separation Science*, 32(12), 2103-2108. doi:10.1002/jssc.200900027
- Jaster, H., Campos A. C. L. P., Auer, L. B. Los, F. G. B., Salem, R.D. S., Esmerino, L. A., Nogueira, A., & Demiate, I. M. (2014). Quality evaluation of parmesan-type cheese: a chemometric approach. *Food Science and Technology*, 34(1), 181-188. doi:10.1590/S0101-20612014000100026
- Langford, V. S., Reed, C. J., Milligan, D. B., Mcewan, M. J., Sheryl, A. B., & Harper, W. J. (2012). Headspace Analysis of Italian and New Zealand Parmesan Cheeses. *Journal of Food Science*, 77(6), 719-726. doi:10.1111/j.1750-3841.2012.02730.x
- Lee, J., Diono, R., Kim, G., & Min, D. B. (2003). Optimization of solid phase microextraction analysis for the headspace volatile compounds of parmesan cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5), 1136-1140. doi:10.1021/jf025910+
- Liu, X., Zhao, A., Zhang, A., Liu, H., Xiao, W., Wang, C., & Wang, X. (2011). Dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatography-mass spectrometry determination of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in milk. *Journal of Separation Science*, 34(9), 1084-1090. doi:10.1002/jssc.201000767
- Niimi, J., Eddy, A. I., Overington, A. R., Silcock, P., Bremer, P. J., & Delahunty, C. M. (2015). Sensory interactions between cheese aroma and taste. *Journal of Sensory Studies*, 30(3), 247-257. 10.1111/joss.12155
- NIST (National Institute of Standards and Technology). (2019). Livro de Química na Web: Base de dados de Referência padrão do NIST número 69. <<https://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser/>>.
- Nunes, A. C. M., Paiva, J. E., Cortez, N. M. S., Nóbrega, I. C.C., & Simões, R. O. (2015). Qualidade físico-química e microbiológica de queijos ralados comercializados em Recife –PE, Brasil. *Journal of Bioenergy and Food Science*, 2(1), 25-31.
- Oliveira, I. C. A. de (2011). *Introdução à Metodologia Científica*. (3a ed.), Virtualbooks.
- Oliveira, L. M. A., Anjos, L. M. J., Souza, P. R. R., Bessa, M. E., & Pinto, M. A. O. (2012). Evaluation of quality of grated cheese to protect public health. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 67(384), 41-47. 10.5935/2238-6416.20120006
- Panseri, S., Chiesa, L. M., Zecconi, A., Soncini, G., & De Noni, I. (2014). Determination of Volatile Organic Compounds (VOCs) from Wrapping Films and Wrapped PDO Italian Cheeses by Using HS-SPME and GC/MS. *Molecules*, 19(7), 8707-8724. 10.3390/molecules19078707
- Pereira, S. G. F., Monteiro, P. S., Costa, A. P. R., & Botrel, R. V. B. F. (2016). Avaliação da qualidade de queijo parmesão ralado de diferentes marcas comerciais. *Higiene Alimentar*, 30(258/259), 64-68.
- Perry, K. S. P. (2004). Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. *Química Nova*, 27(2), 293-300. doi:10.1590/S0100-40422004000200020
- Pimentel, E. F., Dias, R. S., Ribeiro-Cunha, M., & Glória, M. B. A. (2002). Avaliação da rotulagem e da qualidade físico-química e microbiológica de queijo ralado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 22(3), 289-294. 10.1590/S0101-20612002000300016
- Prates, D. F., Würfel, S. R., Goldbeck, J. C., Lima, A. S., Lopes, G. V., & Silva, W. P. (2017). Microbiological quality and safety assessment in the production of moderate and high humidity cheeses. *Ciência Rural*, 47(11), e20170363. 10.1590/0103-8478cr20170363
- Qian, M., & Reineccius, G. (2002). Identification of Aroma Compounds in Parmigiano-Reggiano Cheese by Gas Chromatography/Olfactometry. *Journal of Dairy Science*, 85(6), 1362-1369. 10.3168/jds.S0022-0302(02)74202-1
- Qian, M., & Reineccius, G. (2003). Potent aroma compounds in Parmigiano Reggiano cheese studied using a dynamic headspace (purge-trap) method. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(3), 252-259. 10.1002/ffj.1194
- Quigley, A., Cummins, W., & Connolly, D. (2016). Dispersive Liquid-Liquid Microextraction in the Analysis of Milk and Dairy Products: A Review. *Journal of Chemistry*, 2016, 1-12. 10.1155/2016/4040165

Ribeiro, J. C. B., Cardoso, C. R., Esmerino, L. A., Santos, R. D., Demiate, M. I., & Nogueira, A. (2012). Physicochemical and microbiological quality of grated Parmesan-type cheese sold in Ponta Grossa, Paraná (Brazil). *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 67(387), 21-29. 10.5935/2238-6416.20120046

Salvador, M., Camassola, M., Moschen, E. S., & Zanrosso, A. V. (2001). Avaliação da qualidade microbiológica de queijo prato e parmesão ralado. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 19(1), 65-74. 10.5380/cep.v19i1.1223

Silva, N., Taniwaki, M. H., Junqueira, V. C. A., Silveira, N. F. A., Nascimento, M. S., & Gomes, R. A. R. (2018). *Microbiological Examination Methods of Food and Water: A Laboratory Manual*. London: CRC Press/Balkema, 564 p. 10.1201/9781315165011

Trombete, F. M., Fraga, M. E., & Saldanha, T. (2012). Avaliação da qualidade química e microbiológica de queijo parmesão ralado comercializado no Rio de Janeiro. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 67(385), 11-16.