EFEITO DO USO DE DIÓXIDO DE CARBONO (CO_2) NA MICROESTRUTURA DOS QUEIJOS MINAS FRESCAL E MINAS PADRÃO

Effect of carbon dioxide (CO_2) use in the microstructure of Minas Frescal and Minas Padrão cheeses

Junio César Jacinto de PAULA[1]
Antônio Fernandes de CARVALHO[2]
Gisela de Magalhães MACHADO[3]
Denise SOBRAL[4]
Vanessa Aglaê Martins TEODORO[5]
Luiz Carlos G. COSTA JUNIOR[6]

SUMÁRIO

A pré-acidificação do leite com CO_2 para a fabricação de queijos pode trazer benefícios tecnológicos e econômicos. Ao contrário de outros ácidos, grande parte do ácido carbônico formado pela solubilização do CO_2 é perdida durante o processo de fabricação, o que pode evitar problemas tecnológicos e funcionais nos queijos. O objetivo deste trabalho foi avaliar industrialmente os efeitos da utilização de CO_2, dissolvido no leite pasteurizado, na microestrutura dos queijos Minas Frescal e Padrão. O experimento avaliou dois métodos de incorporação de CO_2 no leite pasteurizado para a fabricação dos queijos: injeção de CO_2, sob pressão, no leite a 32°C até pH 6,30 e adição de 5% de água carbonatada ao leite no tanque de fabricação, além do tratamento controle. Foram realizadas analises microscópicas pela microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos queijos submetidos aos diferentes tratamentos, aos 7 e 29 dias de armazenamento. Com base nas condições empregadas no experimento e nos resultados obtidos, pode-se concluir que os queijos Minas Frescal e Minas Padrão tratados com injeção de CO_2 apresentaram visualmente microestrutura mais compacta e mais porosa em comparação aos demais tratamentos. Esse comportamento foi atribuído à diminuição do pH que proporcionou a formação de rede proteica composta por moléculas de caseínas de menores tamanhos, interferindo com as interações entre estas caseínas e favorecendo a formação de uma estrutura de proteínas altamente porosa e compacta.

Termos para indexação: Queijo Minas; Processamento; Microestrutura.

1 INTRODUÇÃO

Diversos efeitos podem ser visivelmente observados na tecnologia e no produto final, quando se utiliza a pré-acidificação do leite para fabricação de queijos. Dentre eles, vários autores têm relatado efeitos tecnológicos como diminuição do tempo de coagulação, aumento da firmeza da coalhada, maior liberação de soro, redução da dose de coalho, melhor controle do

1 Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos (UFV). Pesquisador e Professor da EPAMIG-CEPE/ILCT. Rua Tenente Freitas, 116, Juiz de Fora – MG. Tel: 32-3224-3116. E-mail: junio@epamig.br.
2 Pós-Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos (UFV). Professor Adjunto do DTA/UFV. Campus Universitário – Viçosa – MG. Tel: 31-3899-1800. E-mail: antoniofernandes@ufv.br.
3 Mestre em Leite e Derivados (UFJF). Pesquisadora e Professora da EPAMIG-CEPE/ILCT. Rua Tenente Freitas, 116, Juiz de Fora – MG. Tel: 32-3224-3116. E-mail: giselammachado@epamig.br.
4 Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos (UFV). Pesquisadora e Professora da EPAMIG-CEPE/ILCT. Rua Tenente Freitas, 116, Juiz de Fora – MG. Tel: 32-3224-3116. E-mail: denisesobral@epamig.br.
5 Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos (UFV). Pesquisadora e Professora da EPAMIG-CEPE/ILCT. Rua Tenente Freitas, 116, Juiz de Fora – MG. Tel: 32-3224-3116. E-mail: vanessa.teodoro@epamig.br.
6 Doutor em Ciência dos Alimentos (UFLA). Pesquisador e Professor da EPAMIG-CEPE/ILCT. Rua Tenente Freitas, 116, Juiz de Fora – MG. Tel: 32-3224-3116. E-mail: luizcarlos@epamig.br.

processo e alterações no rendimento (LOSS e HOTCHKISS, 2003).

A adição de CO_2 por meios artificiais abaixa o pH do leite e resulta em diminuição do tempo de coagulação. Esse efeito pode ser usado para se obter o mesmo tempo de coagulação com menor quantidade de coalho. A injeção de CO_2 normalmente é feita na linha de alimentação do tanque de fabricação sendo que a taxa de injeção e o tempo de contato com o leite antes de misturar o coalho tem de ser calculados quando o sistema for instalado. Queijarias que utilizam o dióxido de carbono relatam que a quantidade de coalho pode ser reduzida pela metade sem efeitos adversos, o que seria uma grande vantagem do ponto de vista econômico (PAULA, 2006).

Alteração do pH do leite, especialmente por acidificação, constitui etapa fundamental para uma série de processos tecnológicos de fabricação, sendo que durante a diminuição de pH, mudanças podem ocorrer na composição e, portanto, na estrutura micelar (GASTALDI et al., 1996). O aumento do cálcio iônico, em leites de diferentes espécies (cabra, ovelha e vaca), devido à adição de CO_2 poderia explicar por que o leite submetido a tal tratamento é mais apropriado para a coagulação. A remoção do CO_2 pela agitação do leite à pressão atmosférica resulta em maior concentração de cálcio iônico que no leite não carbonatado, melhorando, assim, a sua aptidão tecnológica para a fabricação de queijos (DE LA FUENTE et al., 1998).

Nos alimentos com alto teor de umidade, o CO_2 pode se dissolver na fase aquosa, formando ácido carbônico (H_2CO_3), que se dissocia nas espécies iônicas bicarbonato (HCO_3^-), carbonato (CO_3^{2-}) e hidrogênio (H^+) (LOSS e HOTCHKISS, 2003). A presença do ácido carbônico é em parte responsável pelos benefícios tecnológicos como diminuição do tempo de coagulação, aumento da firmeza da coalhada, maior liberação de soro, redução da dose de coalho e melhor controle do processo. No entanto a diminuição do pH pode provocar mudanças nos componentes estruturais, que são mediadas pela modificação no equilíbrio mineral entre a fase contínua e a fase coloidal. Essas alterações estruturais podem influenciar na formação da matriz protéica e consequentemente nas características funcionais, reológicas, mecânicas e de sabor e aroma dos queijos. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar industrialmente os efeitos da utilização de CO_2, dissolvido no leite pasteurizado, na microestrutura dos queijos Minas Frescal e Minas Padrão.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Desenho experimental

O experimento consistiu em avaliar dois métodos de incorporação de CO_2 no leite pasteurizado para a fabricação dos queijos: injeção de CO_2, sob pressão, no leite a 32°C até pH 6,30 e adição de 5% de água carbonatada ao leite no tanque de fabricação, além do tratamento controle (sem CO_2). Os experimentos foram conduzidos em três repetições, no delineamento inteiramente casualizado, em parcelas subdivididas, sendo o fator CO_2 alocado nas parcelas e nos tempos de estocagem como subparcelas. As análises foram realizadas com o auxílio do programa MINITAB, versão 14 (*STATISTICAL SOFTWARE. MINITAB INC.*, 2003).

2.2 Condições de carbonatação

O leite foi pasteurizado em pasteurizador a placas (BRAS HOLANDA, modelo 7500, Curitiba-PR, Brasil) a 72°C por 15 segundos e resfriado para 32°C, utilizando-se a regeneração do sistema. Um expansor de aço inoxidável foi inserido na tubulação de saída de leite pasteurizado, após a seção de regeneração do pasteurizador. Um tubo retardador de aço inoxidável, com uma válvula sanitária de controle de pressão inserida no final, foi adicionado após o ponto de injeção de CO_2, permitindo, pelo menos, 15 segundos de tempo de contato para incorporação de CO_2 no leite pasteurizado. Um medidor de pressão foi colocado na linha logo antes da válvula de controle de pressão. A quantidade de CO_2 adicionada ao leite foi controlada em função da leitura de pH do leite no tanque de fabricação, por meio da abertura ou do fechamento da válvula de controle de fluxo de CO_2, até obtenção de valores de pH na faixa de 6,30.

O tratamento com adição de água carbonatada foi realizado por meio da incorporação de 5% de água carbonatada comercial (marca Crystal) sob o volume de leite utilizado para a fabricação do queijo (2,5 L para 50 L de leite). A água foi adicionada no leite no tanque de fabricação logo antes da adição do coagulante.

2.3 Fabricação do queijo Minas Frescal

Para a fabricação do queijo Minas Frescal, foram utilizados 50 L de leite pasteurizado e padronizado para 3,0% (m/m) de gordura, ao qual foi adicionado cloreto de cálcio (Produtos Macalé LTDA), 25 mL da solução a 40% (m/v). O leite, utilizado nos três tratamentos, foi então acidificado lentamente com solução de ácido lático (Produtos Macalé LTDA), 0,85% (m/v), diluído a 1% (10 mL da solução a 85% m/v, diluída para 1,0 L de água destilada), de modo a aumentar a acidez em 0,02 g de ácido lático por 100 mL de leite. A temperatura foi ajustada para 35°C e então se procedeu à coagulação, usando 1,5 mL de coagulante (Chy-max M®, força 950 IMCU/mL, Chr-Hansen) sendo mantida a mesma quantidade de coagulante para os diferentes

tratamentos. Após o tempo necessário para a coagulação, a coalhada foi cortada lentamente, por meio de liras horizontais e verticais, em cubos grandes (2 cm de aresta) e deixada em repouso por 5 min. O processo de mexedura foi fixado em 20 min após o início da mexedura da coalhada. A massa foi então enformada em formas de Minas Frescal de 250 g, as quais foram deixadas em repouso para o dessoramento e para a realização de três viragens, após 10 min, 30 min e 60 min. Os queijos foram então salgados em salmoura a 20% (m/v) de sal em temperatura de 10°C a 12°C por 40 min e deixados na própria forma para a secagem a 7°C e a 70% de umidade relativa do ar até o dia seguinte, quando foram embalados em embalagens plásticas de polietileno. O queijos foram armazenados em estufas tipo B.O.D (American Lab, BOD AL200) a 5°C ± 1°C para a realização das análises nos tempos previstos.

2.4 Fabricação do queijo Minas Padrão

Para a fabricação do queijo Minas Padrão, foram utilizados 50 L de leite pasteurizado, padronizado para 3,0% (m/m) de gordura e adicionado de cloreto de cálcio (Produtos Macalé LTDA), 25 mL da solução a 40% (m/v). Foi então acrescentada dose normal (2,5 U) de fermento lático mesofílico (DVS, R-704®, Chr-Hansen, composto por: *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis* e *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*) e a temperatura ajustada para 35ºC. Deixou-se o leite em repouso por 20 min, e procedeu-se a coagulação, usando-se 1,5 mL de coagulante líquido (Chy-max M®, força 950 IMCU/mL, Chr-Hansen) para 50 L de leite, sendo mantida a mesma quantidade de coagulante para os diferentes tratamentos. Após o tempo necessário para a coagulação, a coalhada foi cortada lentamente em cubos médios (1,0 cm a 1,5 cm de aresta) e deixada em repouso por cinco minutos. A primeira mexedura foi fixada em 20 min, quando, então, iniciou-se a segunda mexedura com aquecimento da massa com vapor indireto até 38°C. O processo de mexedura se prolongou até o ponto, que foi medido pela ligeira consistência dos grãos. O soro foi drenado e a massa foi pré-prensada, com duas vezes o seu peso estimado, no próprio tanque de fabricação, por 15 min. Após, o bloco de massa foi cortado e enformado em formas cilíndricas de 500 g, equipadas com dessoradores no corpo e na tampa. Os queijos foram prensados por 30 min com peso equivalente a 10 vezes o peso do queijo (5 kg) e, em seguida, foram virados nas formas e recolocados na prensa, trocando-se a posição dos queijos que ficaram na parte superior para a inferior, e novamente foram prensados por mais 90 min com o mesmo peso. Ao final, os queijos foram virados e prensados novamente, da mesma forma, porém, sem o uso do dessorador da forma, durante 20 min, quando os pesos foram retirados e os queijos deixados na própria prensa até obtenção de pH 5,5. Para acompanhamento da evolução do pH ao longo do tempo de fermentação, durante a prensagem dos queijos, foi montada uma curva de pH por tempo para os três tratamentos estudados.

Após a fermentação, os queijos foram levados imediatamente para a salga em salmoura a 20% (m/v) de sal em temperatura de 10°C a 12°C por 6 horas e posteriormente foram deixados na secagem a 7°C e a 70% de umidade relativa do ar até o dia seguinte, quando foram embalados em embalagens plásticas termoencolhíveis a vácuo. Os queijos foram armazenados em câmara fria a 10°C ± 2°C, para a realização das análises nos tempos previstos.

2.5 Análise microestrutural

As análises microestruturais foram realizadas no Núcleo de Microscopia e Microanálise (NMM) da Universidade Federal de Viçosa (UFV). As amostras de queijo Minas Frescal e Minas Padrão foram preparadas para a microscopia eletrônica de varredura (MEV), de acordo com a metodologia utilizada por Lobato-Calleros et al. (2002) e Freire (2009), com modificações. Amostras cilíndricas de 0,5 cm de diâmetro e de altura foram fixadas em solução tampão de glutaraldeído 2 (%) por seis horas, desidratadas em soluções com concentração etanólica crescente: 50%, 60%, 70%, 80%, 90% e 100%, por um período de tempo de permanência em cada solução de 30 min e, por fim, colocadas em acetona por uma hora. Na sequência, as amostras foram levadas ao secador de ponto crítico (marca Bal-Tec modelo CPD 030). Cada amostra seca foi partida manualmente e montada nos *stubs* (suportes porta-amostra do microscópio) com a parte fraturada voltada para cima, e então foram levadas ao pulverizador de ouro (Electron Microscopy Sciences modelo 550x) e recoberta com uma camada de ouro para evitar o colapso da superfície. Um microscópio eletrônico de varredura (Leo modelo 1430 VP, Cambridge, Inglaterra), operando com 15 kV, foi utilizado para visualização das amostras na magnitude entre 1.000 e 2.000 vezes.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Microestrutura do queijo Minas Frescal

Na Figura 1 são mostradas as micrografias dos queijos Minas Frescal submetidos aos

diferentes métodos de incorporação de CO_2 estudados nos dias 7 e 29 de armazenamento.

Diferenças na microestrutura, aos 7 dias, foram observadas, onde a matriz proteica do queijo tratado com injeção de CO_2 (A-7) apresentou visualmente uma estrutura mais compacta, com maior número de poros de tamanho reduzido em comparação com a matriz proteica dos queijos dos demais tratamentos. Tal fato pode ser explicado pelo menor pH do queijo. O tratamento com adição de água carbonatada (C-7) apresentou visualmente uma microestrutura com poros maiores em comparação aos demais tratamentos (A-7) e (B-7), além de apresentar maior número de poros em relação ao tratamento controle (B-7), porém, em menor número quando comparado ao tratamento com injeção de CO_2 (A-7). O tratamento controle (B-7) apresentou visualmente uma microestrutura menos porosa e mais compacta em relação ao queijo adicionado de água carbonatada (C-7). Aos 29 dias, todos os tratamentos (A-7, B-7 e C-7) apresentaram visualmente uma microestrutura semelhante às demonstradas aos 7 dias, em termos comparativos de tamanho e porosidade da matriz proteica. Porém, todas as estruturas encontravam-se mais dilatadas, o que foi claramente observado na avaliação dos queijos por meio da microscopia eletrônica de varredura aos 29 dias. Tal expansão da rede proteica pode ser explicada pela proteólise ocorrida durante o armazenamento do queijo por 29 dias.

Fox et al. (2000) afirmam que a desmineralização, ocorrida através da perda de cálcio e fosfato das micelas de caseínas, é proveniente da diminuição do pH, e compromete a extensão das ligações entre as micelas. Menor grau de ligação entre as caseínas pode ter ocorrido no tratamento com injeção de CO_2. Esse fato pode ter refletido na formação de redes de proteínas menos extensas, favorecendo assim a formação de muitos pequenos espaços vazios (poros) na estrutura proteica, interferindo com as interações entre as cadeias de caseínas e favorecendo a formação de uma estrutura de proteínas altamente porosa e compacta. Freire (2009) também encontrou diferenças na microestrutura dos queijos, ao avaliar o efeito da adição de *Bifidobacterium* e, ou o emprego da acidificação direta sobre as propriedades de queijo Minas Frescal, porém, os queijos sem ácido lático apresentaram visualmente uma estrutura mais compacta.

De acordo com Viotto e Oliveira (1998), para queijo Minas Frescal, esse comportamento decorre do fato de que o coágulo desses queijos elaborados por acidificação direta é formado por partículas de caseínas de menores tamanhos e mais desmineralizadas, resultando em uma rede proteica mais frágil.

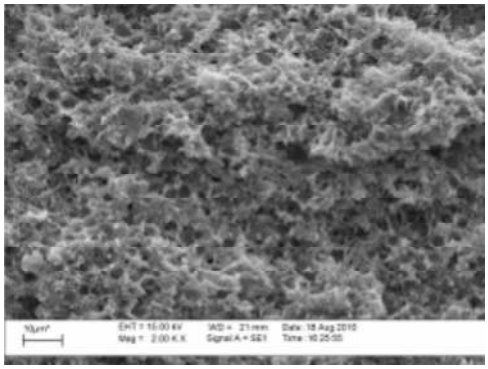
Como existe grande relação entre microestrutura, reologia e textura dos queijos (MADADLOU et al., 2007), a matriz proteica mais compacta observada na Figura 1 (A-7) poderia justificar a maior firmeza e fraturabilidade e maior comportamento sólido (elástico) encontrados posteriormente nas análises de textura e reologia, respectivamente, dos queijos com injeção de CO_2.

3.2 Microestrutura do queijo Minas Padrão

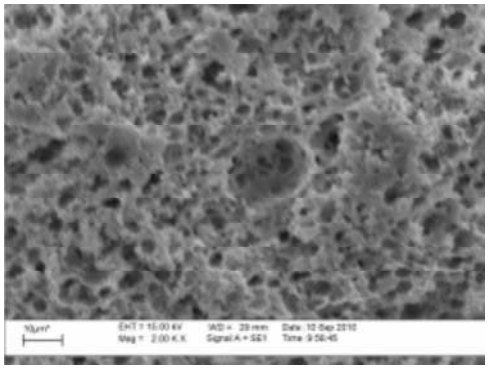
Para o queijo Minas Padrão aos 7 e 29 dias de armazenamento, na Figura 2 são apresentadas as micrografias da microscopia eletrônica de varredura dos queijos dos diferentes tratamentos. De forma semelhante ao queijo Minas Frescal, diferenças na microestrutura, aos 7 dias, foram observadas, onde a matriz proteica do queijo tratado com injeção de CO_2 (A-7) apresentou visualmente uma estrutura mais compacta, com maior número de poros de tamanho reduzido em comparação com a matriz proteica dos queijos dos demais tratamentos (B-7) e (A-7). O tratamento com adição de água carbonatada (C-7) apresentou visualmente uma microestrutura muito semelhante em comparação com o tratamento controle (B-7), porém com tamanho de poros um pouco maiores.

Aos 29 dias, também foram observadas diferenças entre as microestruturas dos queijos dos diferentes tratamentos. O tratamento com injeção de CO_2 (A-29) apresentou microestrutura mais bem definida e mais porosa em relação aos demais tratamentos. Ambas as estruturas mostraram-se mais intumescidas devido à proteólise da massa atribuída ao fermento adicionado. No entanto, o tratamento com adição de água carbonatada (C-29) apresentou microestrutura com grande desarranjo da matriz proteica. Tal fato pode ter decorrido da incorporação de 5% de água no leite, o que poderia favorecer o processo de modificação biológica da matriz paracaseínica e alterar a sua estrutura, tornando-a fisicamente expandida.

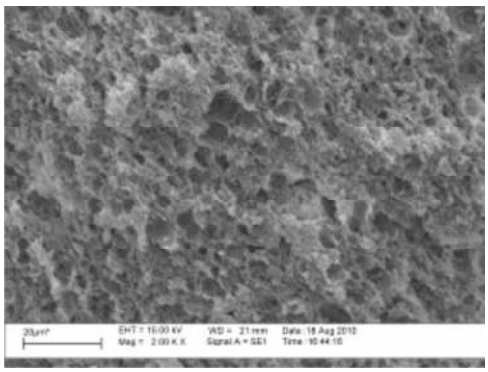
Várias mudanças físico-químicas ocorrem nos componentes estruturais da matriz proteica durante a maturação. Essas mudanças são promovidas por fatores como coagulante residual, micro-organismos e suas enzimas e mudanças no equilíbrio mineral entre a fase contínua e a matriz paracaseínica. O tipo e a extensão das mudanças dependem da variedade, composição e das condições de maturação do queijo. O aumento da hidratação da paracaseína, que é acompanhado pela sua expansão física, é mediado por fatores como sua hidrólise, aumento do pH e solubilização do cálcio ligado à caseína (FOX et al., 2000).



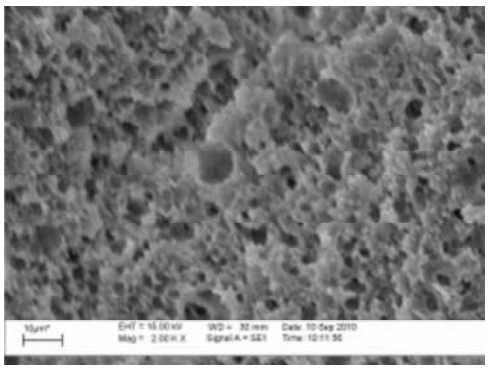
(A-7)



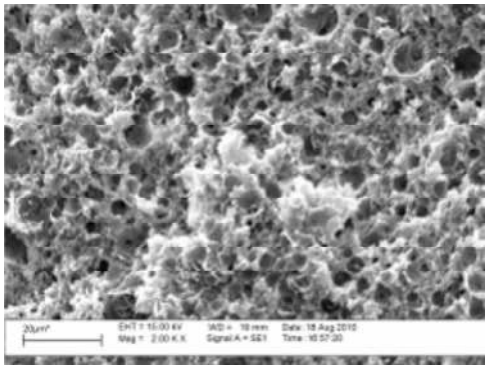
(A-29)



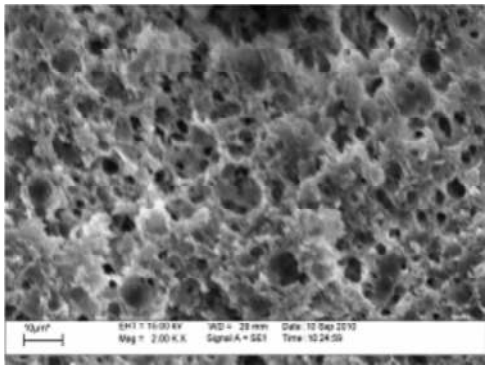
(B-7)



(B-29)

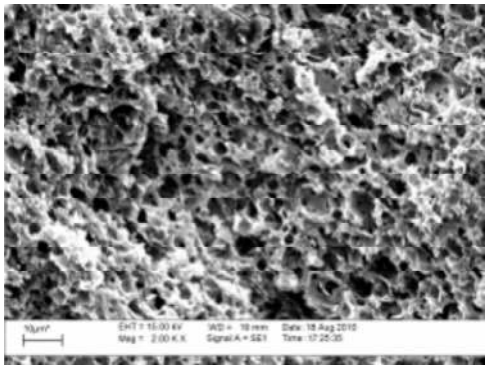


(C-7)

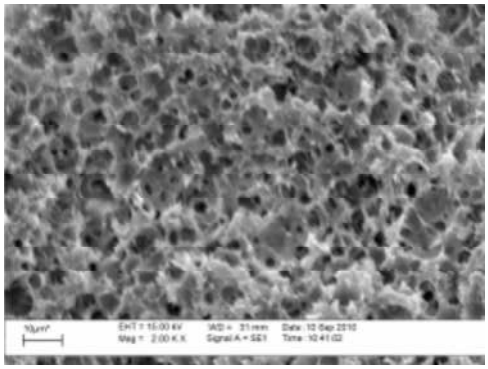


(C-29)

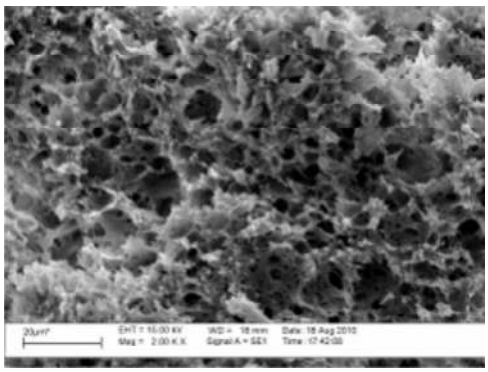
Figura 1 – Micrografias da microscopia eletrônica de varredura dos queijos Minas Frescal submetidos aos diferentes tratamentos; (A-7) queijo tratado com injeção de CO_2, aos 7 dias, (B-7) queijo do tratamento Controle, aos 7 dias, (C-7) queijo do tratamento com adição de água carbonatada, aos 7 dias; (A-29) queijo tratado com injeção de CO_2, aos 29 dias, (B-29) queijo do tratamento Controle, aos 29 dias, (C-29) queijo do tratamento com adição de água carbonatada, aos 29 dias.



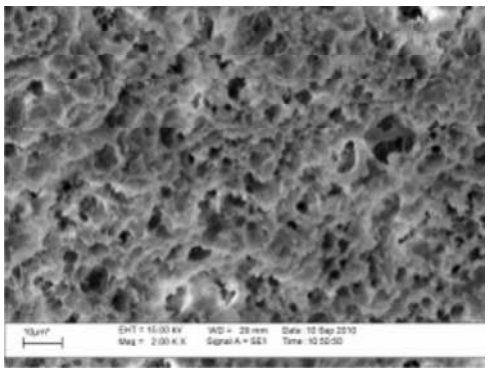
(A-7)



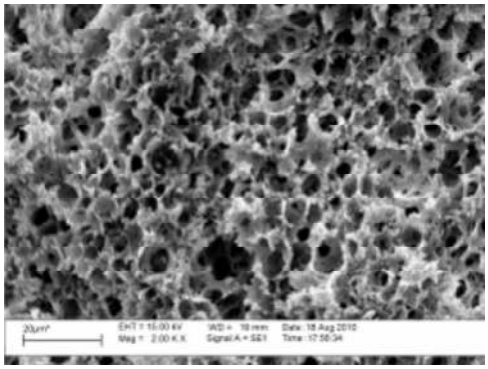
(A-29)



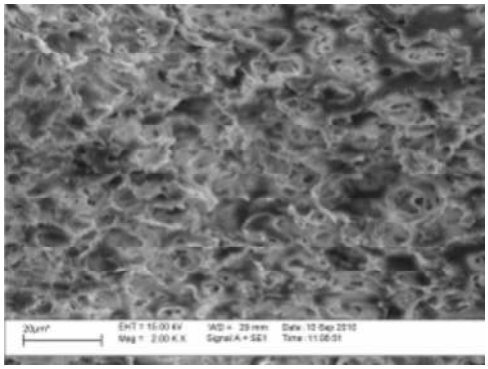
(B-7)



(B-29)



(C-7)



(C-29)

Figura 2 – Micrografias da microscopia eletrônica de varredura dos queijos Minas Padrão submetidos aos diferentes tratamentos; (A-7) queijo tratado com injeção de CO_2, aos 7 dias, (B-7) queijo do tratamento Controle, aos 7 dias, (C-7) queijo do tratamento com adição de água carbonatada, aos 7 dias; (A-29) queijo tratado com injeção de CO_2, aos 29 dias, (B-29) queijo do tratamento Controle, aos 29 dias, (C-29) queijo do tratamento com adição de água carbonatada, aos 29 dias.

4 CONCLUSÃO

Os queijos Minas Frescal e Minas Padrão tratados com injeção de CO_2 apresentaram visualmente microestrutura mais compacta e mais porosa em comparação aos demais tratamentos. Esse comportamento pode ser atribuído à maior acidificação provocada pelo tratamento com injeção de CO_2. Esse fato pode ter refletido na formação de redes de proteínas menos extensas, com partículas de caseínas de tamanhos menores, interferindo assim com as interações entre essas cadeias de caseínas e favorecendo a formação de estrutura proteica altamente porosa e compacta.

Como existe grande relação entre composição, microestrutura, reologia e textura, a maior acidificação do queijo provocada pelo abaixamento excessivo do pH poderia levar a alterações significativas no produto, incluindo redução no rendimento devido ao maior dessoramento provocado pela estrutura mais porosa do queijo, o que diminui a capacidade natural de retenção de água, fazendo com que o produto diminua sua umidade ao longo do tempo. Sendo assim, a utilização de CO_2 no leite para a fabricação de queijos deve ser acompanhada de controle rigoroso do pH do leite visando maximizar os seus benefícios tecnológicos.

SUMMARY

The preacidification of cheese milk with CO_2 can brings technological and economics benefits. Unlike other acids, great part of the carbonic acid formed by the CO_2 solubilization is lost during the cheese-making, which can prevent functional and technological cheese problems. The objective of this work was to evaluate the effects of industrial use of dissolved CO_2, in pasteurized cheese milk, in the microstructure of Minas Frescal and Minas Padrão cheeses. The experiments were carried out with two methods of incorporating CO_2 into pasteurized cheese milk: CO_2 injection, under pressure in the milk at 32°C until to reach pH 6.30 and addition of 5% of carbonated water to the cheese milk in the cheese vat, besides the control treatment. Microscopic analyses were performed by scanning electron microscopy (SEM) of cheeses subjected to different treatments at 7 and 29 days of storage. Under the conditions employed in the experiment and the results, we can conclude that the Minas Frescal and Minas Padrão cheeses treated with CO_2 injection presented visually the more compact and more porous microstructure in comparison to other treatments. This behavior was attributed to the decrease in pH that provided the formation of protein matrix composed of smaller sizes casein molecules, interfering with the interactions between the caseins and favoring the formation of a highly porous and compact protein structure.

Index Terms: Minas Cheese; Processing; Microestructure.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG, pelo suporte financeiro concedido ao projeto.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DE LA FUENTE, M. A., OLANO, A., REQUENA, T. e JUÁREZ, M. Salt Balance and Rennet Clotting Properties of Cow's, Ewe's and Goat' Milks Preserved with Carbon Dioxide. **Journal of Food Protection**. 61, 66-72. 1998.

FOX, P. F., GUINEE, T. P., COGAN, T. M., Mc SWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of cheese science**. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland. 544 p. 2000.

FREIRE, C. B. F. **Efeito da adição de *Bifidobacterium* Bb-12 e/ou do emprego da acidificação direta sobre as propriedades de queijo Minas Frescal**. Dissertação de Mestrado em Ciência dos Alimentos – Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC. 2009.

GASTALDI, E., LAGAUDE, A. e TARODO DE LA FUENTE, B. Micellar Transition State in Casein Between pH 5.5 and 5.0. **Journal of Food Science**. v. 61, p. 59-64. 1996.

LOBATO-CALLEROS, C., RAMIREZ-SANTIAGO, C., OSORIO-SANTIAGO, V. J., VERNON-CARTER, E. J. Microstructure and texture of Manchego cheese-light products Made with canola oil, lipophilic, and hydrophilic emulsifiers. **Journal of Texture Studies**, v. 33, p. 165-182, 2002.

LOSS, C. R. AND HOTCHKISS, J. H. Use of dissolved carbon dioxide to extend the shelf-life of dairy products. **Dairy Processing**. Cornell University, USA. Published by Woodhead Publishing Limited Abington Hall, Abington Cambridge CB1 6AH England. v. 1, p. 391-410. 2003.

MADADLOU, A., KHOSROWSHAHI ASL, A., MOUSAVI, M. E., FARMANI J. The influence of brine concentration on chemical composition and texture of Iranian White cheese. **Journal of Food Engineering**, v. 81, p. 330-335. 2007.

MINITAB, **Meet MINITAB 14 (versão em Português), MINITAB Satatguide, MINITAB Help.** Minitab release 14.1 – Statistical Software. Minitab Inc., 2003.

PAULA, J. C. J. Aplicação de Dióxido de Carbono (CO_2) na Indústria de laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"**. Set/Out, nº 352, v. 61, p. 1-50. 2006.

VIOTTO, W. K.; OLIVEIRA, A. N. Produção de Mussarela por acidificação direta usando pequena quantidade de coagulante. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. v. 53, p. 44-52. 1998.