

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

THAMIRES HELENA BIAGINI

IMPACTO DA INSTABILIDADE DO LEITE NA QUALIDADE E PRODUÇÃO DE
QUEIJO COTTAGE

PONTA GROSSA
2026

THAMIRES HELENA BIAGINI

IMPACTO DA INSTABILIDADE DO LEITE NA QUALIDADE E PRODUÇÃO DE
QUEIJO COTTAGE

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre
em Zootecnia pela Universidade Estadual de Ponta
Grossa.

Área de Produção Animal.

Orientadora: Prof.^a Dra. Marina Tolentino Marinho.

Coorientadora Prof.^a Dra. Adriana de Souza Martins.

PONTA GROSSA
2026

Biagini, Thamires Helena
B576 Impacto da instabilidade do leite na qualidade e produção de queijo cottage
/ Thamires Helena Biagini. Ponta Grossa, 2026.
53 f.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia - Área de Concentração: Produção
Animal), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Marina Tolentino Marinho.

Coorientadora: Profa. Dra. Adriana de Souza Martins.

1. Queijo cottage - Produção. 2. Composição do leite. 3. Proteínas do leite.
4. Gordura do leite. 5. Tecnologia de laticínios. I. Marinho, Marina Tolentino. II.
Martins, Adriana de Souza. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Produção
Animal. IV.T.

CDD: 637.3



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
Av. General Carlos Cavalcanti, 4748 - Bairro Uvaranas - CEP 84030-900 - Ponta Grossa - PR - <https://uepg.br>

TERMO

TERMO DE APROVAÇÃO

THAMIRES HELENA BIAGINI

“Impacto do leite instável não ácido (LINA) na qualidade e produção de queijo Cottage”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Zootecnia - Mestrado em Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias e Tecnologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Ponta Grossa, 20 de
fevereiro de 2026.

Membros da Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente



MARINA TOLENTINO MARINHO
Data: 20/02/2026 16:27:07-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Marina Tolentino Marinho - UEPG
Presidente

Documento assinado digitalmente



GUILHERME DE ALMEIDA SOUZA TEDRUS
Data: 21/02/2026 13:41:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^o Dr.^o Guilherme de Almeida Souza Tedrus - UEPG
Membro Interno

Documento assinado digitalmente



VIVIAN FISCHER
Data: 23/02/2026 10:56:31-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a. Dr.^a Vivian Fischer - UFRGS
Membro Externo

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, agradeço a Deus por me guiar e abençoar nessa caminhada, a Ele toda honra e toda glória.

Agradeço aos meus pais, Bernadete Emília Biagini e Eliel Alberto Biagini, por todo incentivo, por terem embarcado junto nessa jornada, por me acompanharem em toda a etapa do processo das coletas, na finalização desse projeto, sou imensamente grata por isso.

Agradeço ao meu noivo Alessandro Xavier, por todo apoio, por todo carinho e amor, e por me ouvir os meus desabafos e desesperos e alegrias em todo processo, e por todos os finais de semana que não pude estar presente.

Agradeço à minha avó Iva Geni Biagini (in memoriam) por sempre ter me incentivado a seguir meus sonhos.

A orientadora, Prof.^a Dra. Marina Tolentino Marinho, por me conduzir, me aconselhar e confiar em mim, obrigada pelas oportunidades que me proporcionou, pela paciência, cuidado e por sempre estar disponível para me ajudar sempre que precisei.

A coorientadora, Prof.^a Dra. Adriana de Souza Martins, por ter aceitado fazer parte deste projeto e nos orientar sobre os caminhos a serem traçados durante a pesquisa. É uma honra tê-la como Coorientadora.

Aos meus colegas de laboratório e projeto, Nicolas e Rainara, que foram fundamentais nas coletas, no laboratório, e pelas risadas e bate-papos.

A Universidade Estadual de Ponta Grossa UEPG, pela estrutura e oportunidade da realização do Mestrado, agradeço especialmente ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia. Agradeço também à Universidade Federal do Rio Grande do Sul juntamente com a professora Dr.^a Vivian Fischer pela parceria e condução desse projeto.

Aos produtores, acadêmicos, consultores e todos que acreditaram e confiaram em mim e neste projeto. Aos meus amigos e colegas de profissão, obrigada pelas ideias, pelo suporte e pelas palavras de apoio, vocês foram fundamentais.

RESUMO

O presente estudo avaliou a ocorrência de leite instável não ácido (LINA) em rebanhos das raças Holandesa e Jersey na região dos Campos Gerais – PR e investigou o efeito de sua utilização na produção e nas características físico-químicas do queijo tipo Cottage. Amostras individuais de leite foram coletadas de 120 vacas ao longo das quatro estações do ano e analisadas quanto às características zootécnicas, composição físico-química, estabilidade ao álcool, pH, acidez titulável e contagem de células somáticas. A estabilidade ao álcool apresentou variação sazonal e comportamento distinto entre as raças, sem associação consistente com a acidez titulável, reforçando o caráter multifatorial do LINA. A produção do queijo tipo Cottage foi realizada em bateladas utilizando leite classificado como estável e instável ao teste do álcool na concentração de 74%, seguindo metodologia tecnológica padronizada. O uso de leite instável resultou em maior rendimento industrial aparente, maior retenção de proteína e maior teor de umidade no produto ($p < 0,05$), enquanto o teor de gordura apresentou redução proporcional na massa e no queijo. Na análise instrumental de textura, os queijos elaborados com leite instável apresentaram maiores valores de elasticidade, coesividade, mastigabilidade e resiliência ($p < 0,05$), sem diferença significativa para dureza e adesividade. A avaliação instrumental de cor evidenciou diferenças nos parâmetros a^* e b^* , sem alteração significativa da luminosidade (L^*). Nas condições experimentais avaliadas, a instabilidade proteica do leite promoveu alterações em parâmetros físico-químicos e tecnológicos do queijo tipo Cottage, sem inviabilizar sua fabricação. Os resultados indicam que o LINA pode ser direcionado à produção de queijos frescos de alta umidade, desde que considerados ajustes tecnológicos adequados.

Palavras-chave: estabilidade do leite; gordura; proteína; tecnologia de laticínios; rendimento.

ABSTRACT

The present study evaluated the occurrence of non-acid unstable milk (NAUM) in Holstein and Jersey herds in the Campos Gerais region, Paraná State, Brazil, and investigated the effect of its use on the production and physicochemical characteristics of Cottage cheese. Individual milk samples were collected from 120 cows throughout the four seasons of the year and analyzed for zootechnical parameters, physicochemical composition, alcohol stability, pH, titratable acidity, and somatic cell count. Alcohol stability showed seasonal variation and distinct behavior between breeds, with no consistent association with titratable acidity, reinforcing the multifactorial nature of NAUM. Cottage cheese was produced in batches using milk classified as stable and unstable in the alcohol test at 74% concentration, following a standardized technological protocol. The use of unstable milk resulted in higher apparent industrial yield, greater protein retention, and higher moisture content in the final product ($p < 0.05$), while fat content showed a proportional reduction in both curd and cheese. In instrumental texture analysis, cheeses produced with unstable milk presented higher elasticity, cohesiveness, chewiness, and resilience values ($p < 0.05$), with no significant differences observed for hardness and adhesiveness. Instrumental color evaluation revealed differences in a^* and b^* parameters, without significant changes in lightness (L^*). Under the evaluated experimental conditions, milk protein instability promoted changes in physicochemical and technological parameters of Cottage cheese without compromising its manufacture. The results indicate that NAUM can be directed to the production of high-moisture fresh cheeses, provided that appropriate technological adjustments are applied.

Keywords: dairy technology; fat; protein; stability of milk; yield.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Fluxograma de Fabricação do Queijo Tipo Cottage.	27
Figura 2- Correlações de Pearson entre características do leite da raça Holandesa (número de partos, DEL, ECC, produção, % gordura, % proteína, lactose, ST, CCS, pH, estabilidade ao álcool e acidez) em amostras com estabilidade inferior a 72% v/v.	36
Figura 3 - Correlações de Pearson entre características do leite da raça Jersey (número de partos, DEL, ECC, produção, % gordura, % proteína, lactose, ST, CCS, pH, estabilidade ao álcool e acidez) em amostras com estabilidade inferior a 72% v/v.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-Interpretação de resultados de análises do leite quanto à acidez titulável em pH e em graus Dornic.	24
Tabela 2 - Efeito da estação do ano sobre características zootécnicas e físico-químicas do leite de vaca da raça Holandesa.	32
Tabela 3 - Características produtivas e composicionais do leite em vacas da raça Holandesa segundo a faixa do teste do álcool.	34
Tabela 4 - Efeito da estação do ano sobre características zootécnicas e físico-químicas do leite de vacas da raça Jersey.	38
Tabela 5 - Características produtivas e composicionais do leite em vacas da raça Jersey segundo a faixa do teste do álcool.	40
Tabela 6 - Características tecnológicas, físico-químicas e de composição dos queijos tipo Cottage produzidos a partir de leite normal e leite instável.	43
Tabela 7 - Parâmetros de textura instrumental dos queijos tipo Cottage produzidos a partir de leite normal e leite instável.	45
Tabela 8 - Parâmetros de cor instrumental (L^* , a^* , b^*) dos queijos tipo Cottage produzidos a partir de leite normal e leite instável.	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APCBRH - Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa

CCS - Contagem de células somáticas

CPP - Contagem Padrão em Placas

CFB - Subtropical úmido mesotérmico

DEL - Dias em lactação

ECC - Escore de condição corporal

G - Gordura

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística IN Instrução Normativa

IN - Instrução Normativa

IAL – Instituto Adolfo Lutz

Lac - Lactose

LINA - Leite instável não ácido

MAPA - Ministério da Agricultura e Pecuária

P - Proteína

pH - Potencial hidrogeniônico

PL - Produção de leite

RBQL - Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite

RIISPOA - Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal

ST - Sólidos totais

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA.....	10
1.1 INTRODUÇÃO.....	10
1.2 LEITE INSTÁVEL	11
1.3 FATORES ASSOCIADOS À OCORRÊNCIA DE LEITE INSTÁVEL.....	12
1.4 QUEIJO TIPO <i>COTTAGE</i>	14
REFERÊNCIAS	16
CAPÍTULO 2 - IMPACTO DA INSTABILIDADE DO LEITE NA QUALIDADE E PRODUÇÃO DE QUEIJO COTTAGE	18
2.1 INTRODUÇÃO.....	18
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS	19
2.2.1 Coleta das amostras	22
2.2.2 Análises de pH, estabilidade e de acidez titulável do leite	22
2.2.3 Produção do queijo tipo cottage	24
2.2.4 Análises físico-químicas, de cor e de textura do queijo tipo Cottage.....	28
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
2.3.1 Resultados do Leite da Raça Holandesa.....	31
2.3.2 Resultados do Leite da Raça Jersey.....	37
REFERÊNCIAS	51

CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA

1.1 INTRODUÇÃO

A pecuária leiteira brasileira tem registrado importantes transformações nos últimos anos, caracterizadas por ganhos expressivos de produtividade por animal, aumento do volume médio de produção por propriedade e maior concentração fundiária (EMBRAPA, 2025).

Nesse cenário, a atividade assume papel estratégico na cadeia agroalimentar, uma vez que o leite constitui um dos alimentos mais consumidos no mundo e representa relevante fonte de renda para produtores rurais (Costa et al., 2023).

De acordo com o Anuário do Leite da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 2024), o Brasil ocupa a sexta posição entre os maiores produtores mundiais de leite, com produção de 27,69 milhões de toneladas, correspondendo a aproximadamente 4% do volume global. Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2024) indicam que a captação de leite no segundo trimestre de 2024 atingiu cerca de 5,81 bilhões de litros, representando crescimento de 0,4% em relação ao mesmo período de 2023.

Nas últimas duas décadas, a produção nacional apresentou expansão de 59%, concomitante à redução de aproximadamente 19% no número de vacas ordenhadas. Paralelamente, observou-se aumento significativo da produtividade animal, estimado em 95%, passando de 1.155,71 para 2.259,06 litros/vaca/ano (EMBRAPA, 2025).

Regionalmente, Sudeste, Centro-Oeste e Sul concentram a maior parte da produção, com destaque para Minas Gerais, Goiás, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, responsáveis por 68,63% do total nacional (EMBRAPA, 2025).

A bovinocultura leiteira destaca-se não apenas pelo impacto econômico, mas também por sua relevância social e ambiental, caracterizando-se por grande heterogeneidade produtiva, que abrange desde sistemas familiares até propriedades altamente tecnificadas (Willers et al., 2014).

Paralelamente aos avanços produtivos, houve intensificação das exigências quanto à qualidade do leite. A regulamentação brasileira evoluiu a partir da Instrução Normativa nº 51 (BRASIL, 2002), posteriormente substituída pela Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2011) e, atualmente, pelas Instruções Normativas nº 76 e nº 77, publicadas em 2018 (BRASIL, 2018a; BRASIL, 2018b). Essas normativas estabeleceram critérios de identidade e qualidade do leite cru refrigerado, incluindo parâmetros físico-químicos, microbiológicos e a avaliação da estabilidade ao etanol. Entre os requisitos industriais, destacam-se teores mínimos de 3% de

gordura, 2,9% de proteína e 8,4% de extrato seco desengordurado, além da estabilidade ao teste do álcool ou alizarol a 72% (v/v), amplamente utilizado como indicador indireto da estabilidade proteica do leite.

Apesar dos avanços regulatórios e tecnológicos, a ocorrência de leite instável não ácido (LINA) permanece como desafio para produtores e indústrias, pois suas causas ainda não estão totalmente esclarecidas. Essa condição é identificada no teste do álcool, quando ocorre coagulação do leite em determinada graduação alcoólica, sem que haja elevação correspondente da acidez titulável, indicando desestabilização da estrutura micelar (Zanela *et al.*, 2006). Tal instabilidade pode resultar na rejeição da matéria-prima, ocasionando prejuízos econômicos ao produtor e dificuldades no processamento industrial.

1.2 LEITE INSTÁVEL

O leite instável não ácido (LINA) é definido como aquele que apresenta perda da estabilidade proteica no teste do etanol, mantendo valores de acidez titulável dentro dos padrões considerados normais (Machado, 2010). Essa condição pode gerar prejuízos econômicos à cadeia produtiva, uma vez que o leite pode ser rejeitado ou desvalorizado pela indústria, mesmo sem apresentar acidez elevada segundo os critérios estabelecidos pela legislação brasileira (Ribeiro *et al.*, 2006).

A precipitação proteica no teste do álcool pode ocorrer mesmo quando a acidez titulável é inferior a 0,18 g de ácido láctico/100 mL, caracterizando instabilidade sem acidificação prévia.

Trata-se de uma alteração de natureza físico-química, associada à fração proteica majoritária do leite, a caseína, responsável por aproximadamente 80% da proteína total. As caseínas organizam-se em micelas coloidais complexas compostas predominantemente pelas frações α_1 -, α_2 -, β - e κ -caseína, estabilizadas por interações hidrofóbicas e por ligações com fosfato de cálcio coloidal (Walstra; Wouters; Geurts, 2006; Fox *et al.*, 2017).

A κ -caseína desempenha papel central na estabilidade micelar, localizando-se preferencialmente na superfície das micelas e formando uma camada hidrofílica responsável por promover repulsão estérica e eletrostática entre partículas. As frações α - e β -caseínas constituem predominantemente o interior micelar, apresentando maior afinidade por cálcio e contribuindo para a integridade estrutural (Horne, 2006; Lucey, 2002).

O equilíbrio mineral do leite, especialmente entre cálcio iônico (Ca^{2+}), cálcio coloidal e fosfato, é determinante para a estabilidade das micelas. Alterações nesse equilíbrio podem

modificar as forças de interação entre caseínas, aumentando a suscetibilidade à agregação proteica. Em leites classificados como LINA, estudos relatam alterações na fração mineral solúvel e no equilíbrio coloidal, o que pode reduzir a resistência das micelas à ação do etanol, mesmo na ausência de elevação da acidez titulável (Voges et al., 2018).

Dessa forma, o LINA não está necessariamente associado à deterioração microbiológica, mas a alterações no equilíbrio coloidal do leite que afetam sua estabilidade alcoólica e, em determinadas condições, sua estabilidade térmica (Fox et al., 2017; Walstra; Wouters; Geurts, 2006). Fatores nutricionais e variações na ingestão alimentar têm sido apontados como possíveis desencadeadores do fenômeno, embora os mecanismos envolvidos ainda não estejam completamente elucidados (Machado, 2010).

Do ponto de vista tecnológico, a redução da estabilidade físico-química pode comprometer o desempenho industrial sob aquecimento, favorecendo a ocorrência de precipitação proteica e interferindo em processos como a fabricação de queijos (Walstra; Wouters; Geurts, 2006; Fox et al., 2017; Horne, 2006; Silva et al., 2012).

Entre os métodos de triagem da qualidade do leite, a prova do álcool destaca-se por sua praticidade e ampla utilização em propriedades e plataformas de recepção industrial. O teste baseia-se na desidratação parcial das proteínas lácteas pelo etanol, permitindo estimar a resistência do leite frente a condições que promovem desestabilização proteica (Marques et al., 2007).

A legislação brasileira estabelece como parâmetro mínimo a estabilidade ao etanol a 72% (v/v), conforme disposto nas Instruções Normativas nº 76 e nº 77 (BRASIL, 2018a; BRASIL, 2018b). Concentrações alcoólicas superiores podem aumentar a sensibilidade do teste e resultar na rejeição de leite que atenderia aos padrões mínimos estabelecidos (Zanela *et al.*, 2009).

1.3 FATORES ASSOCIADOS À OCORRÊNCIA DE LEITE INSTÁVEL

A composição do leite constitui aspecto central na elaboração de derivados lácteos, uma vez que variações em seus constituintes podem refletir diretamente no valor nutricional e na qualidade tecnológica dos produtos obtidos. No caso do leite instável não ácido (LINA), diversos estudos têm comparado sua composição à do leite classificado como estável; contudo, a interpretação de valores médios deve ser realizada com cautela, considerando que os trabalhos

foram conduzidos sob diferentes condições ambientais, genéticas e nutricionais, o que limita comparações diretas entre resultados (Fischer, 2012; Zanela et al., 2015).

A ocorrência de LINA tem sido associada a alterações no equilíbrio mineral do leite, especialmente na dinâmica do cálcio iônico (Ca^{2+}) e do fosfato, resultantes da interação de múltiplos fatores fisiológicos, nutricionais, metabólicos, ambientais e genéticos.

Entre os fatores fisiológicos e nutricionais, destacam-se situações de restrição alimentar, dietas desbalanceadas em energia e proteína e o balanço energético negativo no início da lactação. Essas condições podem estar relacionadas a alterações na síntese de lactose e na permeabilidade das tight junctions da glândula mamária, favorecendo modificações na transferência de íons do sangue para o leite e, consequentemente, no equilíbrio mineral (Fischer et al., 2012; Zanela et al., 2015).

Distúrbios metabólicos, como acidose ruminal e metabólica, geralmente associados a dietas com elevada proporção de amido e reduzido teor de fibra efetiva, também têm sido relacionados ao aumento da fração de cálcio iônico no leite, o que pode reduzir sua estabilidade ao teste do álcool (Zanela et al., 2011; Martins et al., 2015).

Fatores ambientais, especialmente condições de estresse térmico caracterizadas por altas temperaturas e umidade relativa, podem reduzir o consumo de matéria seca e promover alterações na síntese e secreção de componentes do leite, impactando sua composição e estabilidade (Costa et al., 2013; Fischer et al., 2012).

Aspectos genéticos também influenciam a estabilidade do leite, particularmente as variantes da κ -caseína. O alelo B tem sido associado a maior estabilidade micelar, enquanto determinadas populações podem apresentar maior predisposição à instabilidade alcoólica, embora os resultados ainda sejam heterogêneos entre estudos (Fischer et al., 2012).

A saúde da glândula mamária pode influenciar a composição do leite, com alterações nos teores de lactose, proteína e minerais. Entretanto, a relação entre mastite, contagem de células somáticas e instabilidade ao álcool ainda apresenta resultados divergentes na literatura (Ceballos et al., 2001; Zanela et al., 2015).

Além dos fatores biológicos, aspectos metodológicos do teste do álcool devem ser considerados, como homogeneização da amostra, temperatura do leite, padronização da concentração alcoólica e controle do pH da solução, uma vez que variações nesses procedimentos podem influenciar os resultados do teste (Marques et al., 2007).

Estudos indicam que, sob determinadas condições tecnológicas, o leite classificado como instável ao teste do álcool pode ser direcionado à fabricação de derivados lácteos,

especialmente queijos frescos, desde que suas características específicas sejam consideradas no processo produtivo (Fischer et al., 2010; Costabel et al., 2010).

1.4 QUEIJO TIPO *COTTAGE*

Os queijos podem ser definidos como alimentos frescos ou maturados, obtidos por meio da separação parcial do soro do leite. Esse processo ocorre pela coagulação, que pode ser promovida pela ação do coalho, de enzimas específicas de microrganismos com potencial tecnológico ou ainda por ácidos orgânicos permitidos pela legislação, utilizados de forma isolada ou combinada. De acordo com a legislação brasileira, queijo é o produto obtido pela coagulação do leite, seguido de dessoragem parcial do soro, sendo classificado como um produto lácteo concentrado, composto por proteínas, lipídios, carboidratos, sais minerais — como cálcio e fósforo — além de vitaminas lipossolúveis e do complexo B (BRASIL, 1996).

A legislação brasileira estabelece que, para a produção de queijos, os ingredientes obrigatórios são leite integral, reconstituído, semidesnatado, desnatado e/ou soro lácteo, provenientes de espécies bovina, caprina, bubalina ou ovina, além do coagulante adequado, de origem física, química, bacteriana ou enzimática. Como ingredientes opcionais, são permitidos cultivos de bactérias lácteas ou outros microrganismos específicos, cloreto de sódio, cloreto de cálcio, caseína, caseinatos, sólidos lácteos, condimentos e outros aditivos previstos nos padrões de identidade e qualidade de cada variedade (BRASIL, 1996).

Os queijos podem ser classificados conforme o tipo de leite utilizado, o processo de coagulação, a consistência da massa, o teor de gordura e o tipo de maturação. Em relação ao teor de matéria gorda no extrato seco, a legislação define as seguintes categorias: extragordo ou duplo creme ($\geq 60\%$), gordo (45–59,9%), semigordo (25–44,9%) e magro (10–24,9%). Quanto ao teor de umidade, os queijos são classificados em baixa umidade ($\leq 35,9\%$), média umidade (36–45,9%), alta umidade (46–54,9%) e muito alta umidade ($\geq 55\%$) (BRASIL, 1996).

Entre os queijos frescos de alta umidade, destaca-se o queijo tipo Cottage. Sua origem é atribuída à Grã-Bretanha, embora sua produção industrial tenha se difundido nos Estados Unidos no início do século XX, onde se consolidou como um produto amplamente consumido (Rodrigues, 1999; Farkye, 2004). O termo cottage, que significa “casa de campo”, remete à sua tradição como queijo caseiro típico de áreas rurais (Farkye, 2004).

O queijo Cottage é caracterizado como um queijo fresco, macio, não maturado, constituído por grânulos de coalhada relativamente uniformes. Apresenta textura granular,

coloração branca e sabor levemente ácido e salgado, podendo ser comercializado na forma de coalhada seca ou acrescido de creme (dressing), o que confere maior cremosidade ao produto (Melito; Damiano, 2015). Sua composição típica inclui elevado teor de umidade, baixo teor de gordura e boa concentração de proteínas, características que o enquadram como um queijo de menor valor energético e alta digestibilidade (Araújo et al., 2009).

No mercado brasileiro, o produto apresenta boa aceitação, atribuída ao sabor suave, à versatilidade de uso culinário e à associação com o consumo de alimentos considerados mais saudáveis, com menor teor calórico e lipídico (Robert, 2007). Do ponto de vista nutricional, o Cottage destaca-se como fonte de proteínas de alto valor biológico, principalmente caseína, além de apresentar teor reduzido de lipídios, moderada quantidade de lactose e aporte de cálcio, contribuindo para seu interesse na alimentação humana (Pozzobon, 2019).

No Brasil, embora não exista Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade específico para o queijo Cottage, o produto é enquadrado na definição geral de queijo estabelecida pela Portaria n.º 146, de 7 de março de 1996, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1996). Quanto à classificação tecnológica, trata-se de um queijo fresco, de muito alta umidade ($\geq 55\%$) e de baixo teor de gordura no extrato seco, podendo ser classificado como magro ou desnatado, conforme sua composição.

A qualidade de queijos frescos, como o Cottage, depende diretamente da composição do leite e do comportamento das proteínas durante a coagulação e retenção de umidade. Nesse contexto, a instabilidade do leite ao teste do álcool, especialmente nos casos classificados como leite instável não ácido (LINA), está associada a alterações no equilíbrio do sistema micelar, que podem interferir na aptidão tecnológica da matéria-prima. Embora diversos estudos tenham investigado os fatores relacionados à ocorrência de LINA, ainda são limitadas as informações sobre seu impacto no desempenho industrial e nas características físico-químicas de derivados lácteos.

Dessa forma, torna-se relevante compreender como essa instabilidade influencia nos produtos frescos de alta umidade, como o queijo tipo Cottage. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ocorrência de leite instável em rebanhos das raças Holandesa e Jersey e investigar o efeito da utilização desse leite na produção e qualidade do queijo Cottage, comparando-o com queijo elaborado a partir de leite considerado estável.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, E. A., FERNANDES, A.C., SANTOS, E. L., MANSUR, M. F., ALENCAR, C.M. Produção de queijo tipo cottage simbiótico e estudo de sobrevivência das células probióticas quando expostas a diferentes estresses. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 39, n. 2, p. 111-118, 2009.
- BELOTI, VANERLI. **Leite: obtenção, inspeção e qualidade**. Londrina: Editora Planta. 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Portaria nº 146 de 07 de março de 1996**. Diário Oficial da União, 15 de maio de 1997.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa no 51, de 18 de setembro de 2002**. Diário Oficial da União, 19 de setembro de 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa SDA nº 53, de 29 de dezembro de 2000**. Diário Oficial da União, Brasília, 29 de dezembro de 2000.
- BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa no 62, de 29 de dezembro de 2011**. Diário Oficial da União, 30 de dezembro de 2011.
- BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa no 76, de 26 de novembro de 2018**. Diário Oficial da União, 30 de novembro de 2018.
- BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa no 77, de 26 de novembro de 2018**. Diário Oficial da União, 30 de novembro de 2018.
- FARKYE, N.Y. Cheese technology. **International Journal of Dairy Technology**, v. 57, n.2/ 3, p. 91-98. 2004.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção de Leite**. 2024.
- LAZZAROTTO, T. C. **Estudo da viabilidade técnica na industrialização de derivados lácteos a partir da utilização de leite instável não ácido (LINA)**. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Produção) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2013.
- MACHADO, S. C. **Fatores que Afetam a Estabilidade do Leite Bovino**. 2010. 191p. Tese (Doutorado em Zootecnia. Produção Animal) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. 2010.
- MARQUES, L. T.; FISCHER, V.; ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JUNIOR, W.; MANZKE, N. Fornecimento de suplementos com diferentes níveis de energia e proteína para vacas Jersey e seus efeitos sobre a instabilidade do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p. 2724-2730. 2010.
- MARQUES, L.T.; ZANELA, M.B.; RIBEIRO, M.E.R.; STUMPF JUNIOR, W.; FISCHER, V. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 13, n. 1, p. 91-97. 2007.

MARTINS, C. M. M. R. *et al.* Efeito da diferença de cátions-anions na dieta sobre o desempenho de vacas leiteiras em lactação e a estabilidade das proteínas do leite. **Journal of Dairy Science**, [S.l.], v. 98, p. 1-12. 2015.

MARX, I.G.; LAZZAROTTO, T.C.; DRUNKLER, D.A.; COLLA, E. Ocorrência do leite instável não ácido na região oeste do Paraná. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 13, n. 1, p. 1-10. 2011.

MELITO, H. S. J.; DAMIANO, H. Influence of various hydrocolloids on Cottage cheese cream dressing stability. **International Dairy Journal**, [s.l.], v. 51, p. 24–33, dez. 2015.

OLIVEIRA, C. A. F.; LOPES, L. C.; FRANCO, R. C.; CORASSIN, C. H. Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido recebido em laticínio do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.12, n.2. 2011.

POZZOBON, V.; POZZOBON, C. Cottage cheese in a diet – a review. **Nutrition and Food Science**, v. 49, n. 6, p. 1265–1274, 2019.

RANGEL, A. H. N.; BOARI, C. A. O leite instável não ácido e os Queijos Artesanais. **Queijos Artesanais**, nº 5, julho, 13p, 2020.

ROBERT, N. F. Fabricação de queijos especiais a partir do leite de vaca. **Dossiê Técnico**. REDETEC Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2007.

RODRIGUES, F. C. Lácteos especiais. Juiz de Fora: Concorde Editora Gráfica, 1999. 1 51p. SAS Institute. SAS Guide: Statistics; Version 8.0. SAS Institute, Cary, NC, USA. 1999

STUMPF, M. T.; FISCHER, V.; KOLLING, G. J.; SILVA, A. V. DA; RIBEIRO, M. E. R.; SANTOS, C. DA S. dos. Behaviors associates with cows more prone to produce milk with reduced stability to ethanol test due to feeding restriction. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 9, p. 1662-1667. 2016.

STUMPF, M.T. *et al.* Severe feed restriction increases permeability of mammary gland cell tight junctions and reduces ethanol stability of milk. **Animal**, v. 7, p. 1137-1142. 2013.

WALSTRA, P. On the Stability of casein micelles. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 1965-1979. 1990.

ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; FISCHER, V.; KOLLING, G. J. Leite Instável não ácido (LINA) - Variações na composição do leite. **Circular Técnica** 166 (EMBRAPA). Pelotas, RS. 2015.

ZANELA, M.B.; RIBEIRO, M.E.R.; FISCHER, V. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 1009-1013. 2009.

ZANELLA, M. B.; FISCHER, v.; RIBEIRO, M. E. R.; BARBOSA, R. S.; MARQUES, L. T.; STUMPF JUNIOR, W.; ZANELA, C. Leite instável não ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 41, n. 5, p. 835-840. 2006.

CAPÍTULO 2 - IMPACTO DA INSTABILIDADE DO LEITE NA QUALIDADE E PRODUÇÃO DE QUEIJO COTTAGE

2.1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas tem-se observado aumento nas exigências por matérias-primas de alta qualidade, tanto por parte dos consumidores quanto da indústria de laticínios. Isso ocorre, uma vez que as características do leite cru influenciam o desempenho tecnológico, a segurança e os atributos sensoriais dos derivados lácteos. Nesse sentido, a avaliação da qualidade do leite na recepção industrial constitui etapa fundamental para garantir eficiência no processamento e adequação aos padrões de identidade e qualidade.

Dentre os testes de triagem empregados na recepção de leite, o teste do álcool/alizarol destaca-se por sua ampla utilização na avaliação da estabilidade proteica frente ao aquecimento. Entretanto, a instabilidade observada nesse teste nem sempre está associada à acidez titulável elevada. Historicamente, muitos casos de instabilidade ao álcool têm sido erroneamente interpretados como leite ácido, resultando na rejeição de cargas mesmo quando os parâmetros de acidez encontram-se dentro dos limites legais, o que pode acarretar prejuízos econômicos aos produtores (BRASIL, 2018a; BRASIL, 2018b).

A instabilidade do leite ao teste do álcool/alizarol na ausência de acidez elevada é denominada leite instável não ácido (LINA). Trata-se de um fenômeno de natureza multifatorial, associado a diferentes fatores relacionados à nutrição, manejo, condição sanitária, equilíbrio iônico e composição do leite.

Do ponto de vista tecnológico, a instabilidade proteica característica do LINA pode interferir na coagulação, na retenção de água, na formação da coalhada e no rendimento industrial, influenciando propriedades físico-químicas de derivados lácteos.

Estudos realizados com diferentes tipos de queijos têm demonstrado que os efeitos do LINA variam conforme o tipo de produto. Em queijos frescos sem sal, Goulart et al. (2019) não observaram diferenças significativas nos parâmetros analisados quando comparados ao leite estável. Em estudos com queijo muçarela, Silva et al. (2019) relataram maior umidade e redução do rendimento ajustado associado ao uso de leite instável, ainda que aspectos microbiológicos e de custo de produção tenham permanecido aceitáveis. Para queijo Minas Frescal, Costa (2019) verificou maior umidade e menor teor de proteína e rendimento econômico, apesar de os produtos analisados atenderem aos padrões legais de qualidade.

Do ponto de vista tecnológico, a instabilidade proteica característica do LINA pode interferir na coagulação, na retenção de água, na formação da coalhada e no rendimento industrial, influenciando propriedades físico-químicas de derivados lácteos. Estudos realizados com diferentes tipos de queijos têm demonstrado que os efeitos do LINA variam conforme o tipo de produto.

Em queijos frescos sem sal, Goulart et al. (2019) não observaram diferenças significativas nos parâmetros analisados quando comparados ao leite estável. Em estudos com queijo muçarela, Silva et al. (2019) relataram maior umidade e redução do rendimento ajustado associado ao uso de leite instável, ainda que aspectos microbiológicos e de custo de produção tenham permanecido aceitáveis. Para queijo Minas Frescal, Costa (2019) verificou maior umidade e menor teor de proteína e rendimento econômico, apesar de os produtos analisados atenderem aos padrões legais de qualidade.

Entre os queijos frescos, o queijo tipo Cottage destaca-se por apresentar coalhada macia e granulosa, sabor suave, baixa acidez e elevado teor de umidade (aproximadamente 80%). Seu processo de fabricação envolve etapas específicas, como a lavagem da coalhada para redução de lactose e ácido láctico, resultando em produto de perfil sensorial leve e associado a padrões alimentares considerados saudáveis. Apesar de sua importância tecnológica e comercial, são escassos os estudos que investigam o impacto da instabilidade proteica do leite, como o LINA, na produção e qualidade desse tipo de queijo.

Diante desse contexto, torna-se relevante compreender como a instabilidade proteica do leite influencia produtos frescos de alta umidade, como o queijo tipo Cottage. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ocorrência de leite instável em rebanhos das raças Holandesa e Jersey, bem como investigar o efeito da utilização desse leite na produção e nas características físico-químicas do queijo tipo Cottage.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), com início em junho de 2024, em parceria com duas propriedades leiteiras localizadas no município de Carambeí e no distrito de Ponta Grossa, Paraná.

O município de Carambeí e o distrito de Itaiacoca, localizados na região dos Campos Gerais do estado do Paraná, apresentam clima classificado como subtropical úmido

mesotérmico (Cfb), segundo a classificação de Köppen. Esse tipo climático é caracterizado por verões amenos, ausência de estação seca definida e ocorrência de geadas durante o inverno.

A temperatura média anual da região varia entre 17 °C e 19 °C, com temperaturas mais elevadas no verão, podendo atingir valores próximos a 24 °C, e temperaturas mais baixas no inverno, frequentemente inferiores a 10 °C nos meses mais frios.

A precipitação pluviométrica anual situa-se entre 1.400 e 1.600 mm, com distribuição relativamente uniforme ao longo do ano, embora os maiores volumes de chuva sejam observados nos meses de primavera e verão.

Durante o período experimental, compreendido entre junho de 2024 e o verão de 2025, foram observadas condições típicas da região, com temperaturas mais baixas no inverno, incluindo ocorrência de geadas, seguidas por elevação gradual das temperaturas na primavera e verão, acompanhada por aumento nos índices pluviométricos.

Uma das propriedades encontra-se no município de Carambeí, com rebanho composto por 242 vacas da raça Holandesa, submetidas a sistema de manejo intensivo, com três ordenhas diárias. A outra propriedade situa-se no distrito de Itaiacoca, município de Ponta Grossa, apresentou rebanho de 121 vacas da raça Jersey, manejadas sob sistema semi-intensivo, com duas ordenhas diárias.

Foram avaliadas 60 vacas em lactação por propriedade, selecionadas de acordo com os seguintes critérios de inclusão: animais em lactação ativa, clinicamente saudáveis, sem diagnóstico de mastite clínica no momento da coleta e que não estivessem sob tratamento antimicrobiano. Foram excluídas vacas no período de transição (pré-parto e até 21 dias pós-parto), bem como aquelas que apresentassem enfermidades sistêmicas ou alterações visíveis no leite.

O experimento foi dividido em duas etapas. A primeira consistiu na coleta das amostras de leite ao longo das quatro estações do ano, realizadas nos meses de junho de 2024 (outono), agosto de 2024 (inverno), novembro de 2024 (primavera) e fevereiro de 2025 (verão). A segunda etapa correspondeu à produção e análise do queijo tipo Cottage.

Durante cada período de coleta, foram obtidas duas amostras de leite por animal, com volume aproximado de 40 mL por amostra. O leite foi coletado individualmente durante a ordenha, diretamente do conjunto da ordenhadeira, por meio do Medidor de Leite Nacional Milk Meter, sendo acondicionado em frascos devidamente identificados. As amostras não foram provenientes de tanque ou de mistura (blend), sendo, portanto, representativas de cada vaca avaliada.

As coletas foram realizadas na segunda ordenha do dia, às 12h na propriedade de Carambeí e às 15h na propriedade de Itaiacoca, com intervalos aproximados de 90 dias entre os períodos amostrais. Das amostras coletadas, 60 foram destinadas à análise de Contagem de Células Somáticas (CCS) e composição centesimal, e outras 60 às análises de pH, acidez titulável e estabilidade, totalizando 120 amostras por propriedade em cada estação do ano. Assim, em cada estação foram obtidas 120 amostras de leite de vacas Holandesas e 120 amostras de vacas Jersey.

Além disso, foi realizada a avaliação do escore de condição corporal (ECC) por meio de observação visual e palpação das regiões lombar, sacral e inserção da cauda, utilizando a escala de 1 a 5 pontos, com intervalos de 0,25, proposta por Edmonson et al. (1989), na qual valores maiores indicam maior reserva corporal. O ECC é considerado importante indicador do status nutricional, sendo mais representativo que o peso vivo para avaliação das reservas energéticas do animal (Drennan; Berry, 2006; Nogueira et al., 2015).

Também foram registrados o número de partos, os dias em lactação e a produção individual de leite dos animais avaliados, por se tratar de variáveis que exercem influência direta sobre a composição, estabilidade e propriedades tecnológicas do leite. O número de partos está relacionado ao desenvolvimento fisiológico da glândula mamária, à capacidade produtiva e a alterações na composição do leite, visto que vacas multíparas tendem a apresentar maior produção e diferenças na concentração de sólidos quando comparadas a primíparas (Walstra et al., 2006; Fox et al., 2017).

Os dias em lactação foram considerados por influenciarem o estágio da curva de lactação, o balanço energético e a mobilização de reservas corporais. Animais no início da lactação frequentemente apresentam balanço energético negativo, o que pode alterar a composição proteica e mineral do leite, afetando sua estabilidade físico-química (NRC, 2001; Walstra et al., 2006).

A produção de leite individual foi incluída por refletir o nível metabólico do animal e o efeito de diluição dos componentes do leite, podendo interferir nos teores de proteína, gordura e minerais, fatores diretamente associados à estabilidade das micelas de caseína e ao comportamento tecnológico do leite durante o processamento (Fox et al., 2017; Lucey, 2002).

O conjunto dessas variáveis foi utilizado para caracterização zootécnica dos animais e para melhor interpretação dos resultados relacionados à ocorrência de leite instável.

2.2.1 Coleta das amostras

As amostras de leite foram coletadas individualmente, sendo obtidos dois frascos de aproximadamente 40 mL por animal. Um dos frascos continha conservante bronopol, destinado às análises de Contagem de Células Somáticas (CCS) e composição centesimal, e o outro frasco, sem conservante, foi utilizado para as análises de pH, acidez titulável e estabilidade.

As análises de composição centesimal compreenderam a quantificação dos teores de proteína, caseína, gordura, lactose, nitrogênio ureico, sólidos totais e sólidos desengordurados. Essas análises, juntamente com a determinação da CCS e da Contagem Padrão em Placas (CPP), foram realizadas no laboratório da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), localizado em Curitiba – PR e integrante da Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite (RBQL).

As análises químicas do leite e a CCS foram realizadas no equipamento NexGen (*Bentley Instruments®*), composto por dois módulos: o módulo FCM, baseado em citometria de fluxo, utilizado para a determinação da CCS, conforme a ISO 13366-2 (2008), e o módulo FTS, espectrômetro na região do infravermelho médio por transformada de Fourier, empregado para a quantificação dos teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e nitrogênio ureico, de acordo com a ISO 9622 (2013).

A Contagem Padrão em Placas (CPP) foi realizada no equipamento BactoCount IBC (*Bentley Instruments®*), que utiliza citometria de fluxo para a enumeração individual de bactérias no leite cru, conforme a ISO 4833-1 (2008).

As análises de pH, acidez titulável e estabilidade foram conduzidas no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Estadual de Ponta Grossa, Bloco de Zootecnia.

2.2.2 Análises de pH, estabilidade e de acidez titulável do leite

A estabilidade do leite foi avaliada por meio do teste do álcool, conforme metodologia oficial do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), descrita na Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018, que estabelece os critérios para avaliação da qualidade do leite cru refrigerado (BRASIL, 2018).

O ensaio foi realizado utilizando soluções alcoólicas nas concentrações de 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88 e 90% (v/v) de etanol. A concentração de 72% foi adotada como parâmetro de referência por corresponder ao valor mínimo estabelecido pela Instrução

Normativa nº 76/2018 como critério indicativo de estabilidade do leite cru refrigerado no teste do álcool. De acordo com a legislação, amostras que apresentam coagulação em concentrações inferiores a 72% são consideradas instáveis.

A utilização de concentrações inferiores e superiores a 72% teve como objetivo determinar com maior precisão o ponto crítico de coagulação das amostras, permitindo classificar o grau de estabilidade alcoólica do leite. As concentrações abaixo de 72% possibilitam identificar amostras com maior sensibilidade à desestabilização das micelas de caseína, enquanto concentrações acima desse valor permitem avaliar leites com maior resistência estrutural. Essa abordagem possibilita uma análise mais detalhada do comportamento físico-químico do leite, considerando o equilíbrio entre pH, cálcio iônico, composição proteica e força iônica do sistema, fatores diretamente relacionados à estabilidade das micelas de caseína.

As soluções alcoólicas foram preparadas com auxílio de alcoolômetro Gay-Lussac, ajustando-se a graduação alcoólica com etanol ou água destilada, a fim de garantir a precisão das concentrações utilizadas no teste.

Para a realização da análise, foram pipetados 2 mL de leite e adicionados 2 mL da solução alcoólica na concentração correspondente, em placas de Petri. Após homogeneização manual, procedeu-se à avaliação visual quanto à presença ou ausência de grumos. A formação de grumos foi considerada indicativa de instabilidade, sendo a estabilidade expressa como a menor concentração alcoólica capaz de promover a coagulação da amostra (Zanela; Ribeiro; Fischer, 2015).

O pH das amostras foi determinado em pHmetro modelo HANNA pH21, previamente calibrado com soluções tampão padrão (6,90–7,10). Quando necessário, o ajuste do pH da solução alcoólica foi realizado com ácido clorídrico 0,1 N ou solução Dornic.

A acidez titulável foi determinada pelo método de titulação ácido-base para leite, conforme procedimentos oficiais (BRASIL, 2018). Foram pipetados 10 mL de leite em erlenmeyer, adicionando-se solução indicadora de fenolftaleína. A titulação foi realizada com solução de hidróxido de sódio 0,11 N (solução Dornic) até o aparecimento de coloração rósea persistente. A acidez foi inicialmente expressa em graus Dornic (°D) e posteriormente convertida para g de ácido láctico/100 mL de leite, conforme a Equação abaixo.

$$Acidez\ Titulável = \frac{V \times f}{10}$$

onde:

V = volume de NaOH gasto na titulação (mL);
 f = fator de correção da solução de NaOH.

Na Tabela 1 está apresentada a classificação do leite de acordo com seu pH e acidez.

Tabela 1-Interpretação de resultados de análises do leite quanto à acidez titulável em pH e em graus Dornic.

Classificação	pH	Acidez Dornic
Leite normal	6,6-6,8	14 – 18 g/100 mL
Leite ácido	Abaixo de 6,6	Maior que 18 g/100 mL
Leite alcalino	Acima de 7,0	Menor que 14 g/100 mL

Fonte: Adaptado de RODRIGUES *et al.*,1995.

2.2.3 Produção do queijo tipo cottage

Para a etapa de processamento, foi utilizado leite proveniente de vacas da raça Holandesa pertencentes à Fazenda Escola Capão da Onça, da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). A escolha da raça Holandesa deve-se à sua elevada representatividade na produção leiteira nacional, bem como à sua reconhecida aptidão para produção de leite destinado ao processamento industrial, o que confere maior padronização e aplicabilidade tecnológica aos resultados obtidos.

Previamente à coleta do leite destinado à fabricação dos queijos, foi realizada a triagem individual dos animais do rebanho, com o objetivo de identificar vacas produtoras de leite estável e de leite instável não ácido (LINA). A classificação foi realizada por meio do teste do álcool em diferentes concentrações. Foram considerados como produtores de leite instável não ácido aqueles animais cujas amostras apresentaram coagulação na concentração de 74% (v/v) de etanol, mantendo valores de pH dentro da faixa normal para leite fresco ($\approx$ 6,6–6,8), caracterizando instabilidade proteica não associada à acidificação.

A concentração de 74% foi utilizada como ponto de identificação do LINA por representar valor superior ao mínimo legal de estabilidade (72%), permitindo distinguir amostras com menor resistência estrutural das micelas de caseína, mesmo quando ainda classificadas como estáveis segundo a legislação vigente. Dessa forma, a utilização do ponto de 74% possibilitou maior sensibilidade na seleção do leite com tendência à instabilidade tecnológica.

Após a seleção dos animais, o leite foi coletado individualmente e agrupado de acordo com sua classificação (estável ou LINA), garantindo a formação de dois lotes distintos destinados à fabricação dos queijos.

A fabricação do queijo tipo Cottage foi conduzida em duas bateladas independentes, uma utilizando 30.000 mL de leite classificado como estável e outra 30.000 mL de leite classificado como instável não ácido (LINA), com o objetivo de avaliar os possíveis impactos da estabilidade proteica sobre o processamento e sobre as características físico-químicas e sensoriais do produto. O procedimento adotado baseou-se em metodologias amplamente descritas na literatura de tecnologia de laticínios (FURTADO, 2019; WALSTRA et al., 2006; FOX et al., 2017).

Inicialmente, o leite foi submetido ao processo de pasteurização lenta, sendo aquecido a 65 °C por 30 minutos, conforme recomendado para queijos frescos (FOX et al., 2017). Após a pasteurização, o leite foi resfriado até 40 °C e adicionou-se cloreto de cálcio (CaCl_2) previamente diluído, sob agitação por 1–2 minutos.

A adição de cloreto de cálcio constitui prática tecnológica comum na fabricação de queijos, pois aumenta a disponibilidade de cálcio iônico no leite, reduz o tempo de coagulação enzimática e favorece a formação de uma coalhada mais firme, com maior retenção de sólidos, podendo beneficiar o rendimento e a textura do queijo (Pawlos et al., 2023; AMS, 2024). Estudos recentes também demonstram que a suplementação de cálcio pode influenciar positivamente a organização da rede proteica durante a gelificação, melhorando propriedades texturais sem comprometer a qualidade final do produto (Guggisberg et al., 2022).

Na etapa seguinte, a temperatura foi ajustada para 32 °C, sendo adicionadas culturas lácticas na proporção de 0,01 g/100 mL de leite (0,01% m/v) de fermento lácteo tipo O. O fermento foi polvilhado sobre a superfície do leite, permitindo hidratação por 3–5 minutos, seguida de mistura suave por 2 minutos. O leite permaneceu em pré-maturação por 30 minutos, possibilitando o início da acidificação e o desenvolvimento da microbiota desejável (Furtado, 2019; Lucey, 2002).

Para a coagulação, adicionou-se coalho na proporção de 0,017% (v/v), previamente diluído em água destilada, sob leve agitação para distribuição homogênea. Em seguida, o leite permaneceu em repouso a 40 °C por aproximadamente 45 minutos, até a formação de uma coalhada firme, com ponto de corte adequado, conforme descrito para queijos frescos (Lucey et al., 1997; Fox et al., 2017).

Após a coagulação, a coalhada foi cortada em cubos de aproximadamente 1,5 cm e mantida em repouso por 15 minutos para favorecer a sinérese inicial. Posteriormente, realizou-se aquecimento gradual com adição de água quente correspondente a 15% do volume inicial de leite, elevando a temperatura até 50 °C.

O processo de lavagem foi realizado com água fria (≈ 5 °C), repetido três vezes, com o objetivo de reduzir a acidez, remover lactose residual e promover textura mais macia e característica do queijo Cottage (Furtado, 2019; Guinee, 2007).

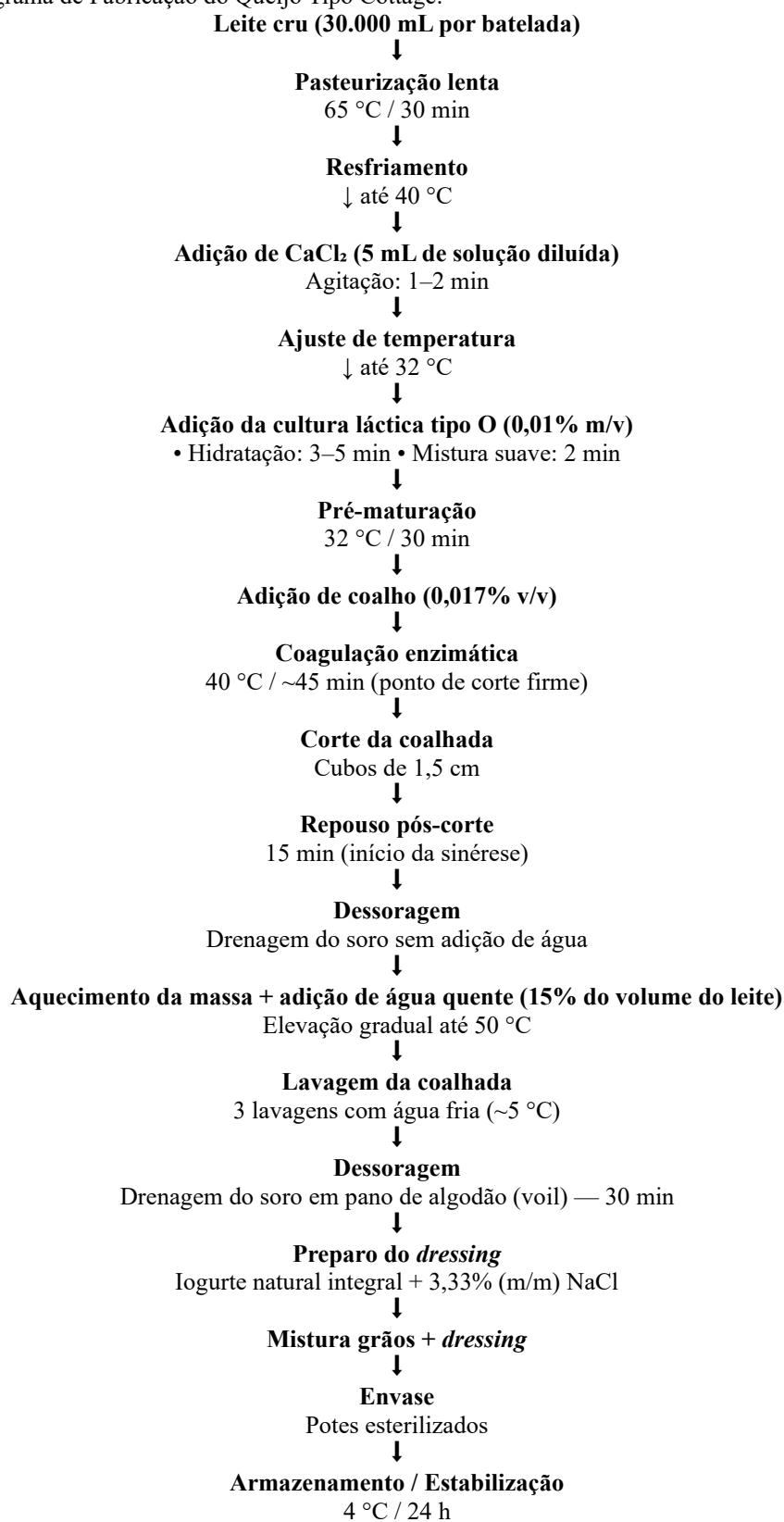
Na etapa de dessoragem, o soro foi completamente drenado e a massa transferida para pano de algodão (voil), permanecendo por aproximadamente 30 minutos para eliminação do excesso de umidade.

O *dressing* foi elaborado com iogurte natural integral, ao qual foi adicionado cloreto de sódio na concentração de 3,33 g/100 g de produto (3,33% m/m). A mistura foi homogeneizada até a formação de creme uniforme, sendo posteriormente incorporada à massa do queijo. O *dressing* foi mantido sob refrigeração (4 °C) até sua utilização, conforme práticas recomendadas para queijos Cottage cremosos (Guinee, 2007).

Os queijos foram armazenados sob refrigeração (4 °C) por 24 horas antes das análises, período destinado à estabilização das propriedades físico-químicas e à integração entre grãos e creme, favorecendo uniformidade de textura e distribuição da umidade (Furtado, 2019; Fox et al., 2017).

O fluxograma do processo de fabricação, aplicado tanto ao leite estável quanto ao leite instável não ácido (LINA), está apresentado de forma esquemática na Figura 1.

Figura 1- Fluxograma de Fabricação do Queijo Tipo Cottage.



Fonte: Adaptado de MOURA, JOYCE, Desenvolvimento de Queijo tipo Cottage com e sem Probiótico enriquecido com farinha de Grão de Bico, **Universidade de Brasília**, 2019.

2.2.4 Análises físico-químicas, de cor e de textura do queijo tipo Cottage

Foram realizadas as análises físicas e químicas no queijo tipo Cottage, incluindo determinação de pH, acidez titulável, teor de gordura, proteína, umidade, avaliação de cor e perfil de textura.

O pH do queijo tipo Cottage foi determinado conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). Para a análise, foram pesados 10 g da amostra, que foram transferidos para um béquer e diluídos em 100 mL de água destilada. A mistura foi homogeneizada até completa dispersão das partículas. O pH foi medido utilizando pHmetro modelo HANNA pH21, previamente calibrado com soluções tampão padrão.

A acidez titulável foi determinada segundo metodologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). Foram pesados 10 g da amostra de queijo, transferidos para balão volumétrico de 100 mL contendo álcool etílico a 95%. O volume foi completado e a solução permaneceu em repouso por 6 horas para extração dos ácidos. Em seguida, a mistura foi filtrada e uma alíquota do filtrado recebeu 5 gotas de solução indicadora de fenolftaleína. A titulação foi realizada com solução de hidróxido de sódio 0,1 M até o aparecimento de coloração rósea persistente. Os resultados foram expressos em graus Dornic (°D).

O teor de gordura foi determinado pelo método de Gerber, conforme IAL (2008). Foram pesados 3 g da amostra de queijo no copo do butirômetro. Adicionaram-se 5 mL de água a 30–40 °C, 10 mL de ácido sulfúrico e 1 mL de álcool isoamílico, completando-se o volume com água morna. O butirômetro foi vedado, homogeneizado e submetido a banho-maria a 63 ± 2 °C por 15 minutos. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas em centrífuga de Gerber (ITR®, modelo 8BTR) por 5 minutos. A porcentagem de gordura foi obtida por leitura direta na escala do butirômetro.

A determinação do teor de proteína foi realizada pelo método de Kjeldahl, com base na quantificação do nitrogênio total da amostra, utilizado como indicativo do teor de proteína total. Para isso, foram pesados aproximadamente 0,5 g de queijo previamente moído, aos quais se adicionaram catalisador e ácido sulfúrico concentrado, procedendo-se à digestão das amostras.

Após a digestão, realizou-se a etapa de destilação. Em um Erlenmeyer de 250 mL, foram adicionados 12 mL de ácido bórico a 4%, aproximadamente 40 mL de água destilada e 3 gotas de solução indicadora. Em seguida, foram adicionados 55 a 60 mL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) de 0,1 M ao tubo digestor, promovendo a alcalinização do meio. A destilação foi conduzida até que o volume do destilado no Erlenmeyer atingisse aproximadamente 125 mL.

Por fim, realizou-se a titulação do destilado com ácido clorídrico 0,1 N padronizado, até a mudança de coloração da solução, de azul para rosa.

O teor de umidade do queijo tipo Cottage foi determinado pelo método gravimétrico por secagem em estufa a 105 °C, conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). Inicialmente, cápsulas de porcelana foram previamente secas em estufa, resfriadas em dessecador e pesadas para obtenção da massa da cápsula vazia. Em seguida, aproximadamente 10 g de amostra de queijo foram adicionados a cada cápsula, realizando-se nova pesagem.

As amostras foram levadas à estufa a 105 °C por cerca de 3 horas. Após esse período, as cápsulas foram resfriadas em dessecador até atingirem temperatura ambiente e novamente pesadas. O processo de aquecimento, resfriamento e pesagem foi repetido até obtenção de peso constante.

Após a determinação da umidade, o conteúdo de sólidos totais foi calculado considerando que a amostra de queijo é constituída basicamente por água e matéria seca. Assim, os sólidos totais correspondem à fração não evaporada durante a secagem, incluindo proteínas, lipídios, lactose e minerais. O cálculo foi realizado pela seguinte equação:

$$ST = 100 - U$$

onde:

ST: sólidos totais (%);

U: Umidade (%).

Os resultados foram expressos em porcentagem (%), representando a fração de matéria seca presente no queijo.

A análise do perfil de textura (Texture Profile Analysis – TPA) dos queijos tipo Cottage foi realizada utilizando um texturômetro TA. XT Plus (Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido), equipado com software específico para aquisição dos dados. O ensaio foi conduzido por meio de teste de dupla compressão, com probe de 36 mm (P36/R) conforme metodologia clássica descrita por Bourne (1978), sendo amplamente aplicado para caracterização textural de queijos frescos (FOX *et al.*, 2017; LUCEY, 2002).

As amostras foram acondicionadas em frascos cilíndricos de aproximadamente 10 cm de diâmetro e 4 cm de altura, contendo cerca de 300 a 330 g de queijo Cottage por unidade, submetidas a compressão com velocidade de pré-teste de 2,0 mm/s, velocidade de teste de 5,0 mm/s e velocidade de pós-teste de 2,0 mm/s. O teste foi conduzido no modo de deformação, com compressão de 50% da altura original da amostra e intervalo de 5,0 segundos compressão. O início do teste ocorreu com força de disparo de 5,0 g.

A partir das curvas força $\times$ tempo, foram obtidos os seguintes parâmetros instrumentais de textura: dureza (*hardness*), adesividade (*adhesiveness*), elasticidade (*springiness*), coesividade (*cohesiveness*), mastigabilidade (*chewiness*) e resiliência (*resilience*).

A cor interna e externa dos queijos foi avaliada utilizando colorímetro MiniScan EZ (Hunter Lab, US), obtendo os parâmetros L^* (luminosidade), a^* (cromaticidade vermelho/verde) e b^* (cromaticidade amarelo/azul).

O rendimento do queijo tipo Cottage foi determinado por meio de balanço de volume, considerando o volume de leite utilizado no processamento e o volume de soro obtido após as etapas de coagulação, corte da coalhada, lavagem e dessoragem. Inicialmente, registrou-se o volume total de leite empregado em cada batelada. Ao final da dessoragem, o soro separado foi quantificado em proveta graduada. O rendimento foi calculado conforme a equação:

$$R(\%) = \frac{V_{\text{leite}} - V_{\text{soro}}}{V_{\text{leite}}} \times 100$$

Onde:

R: rendimento;

V_{leite} : volume de leite utilizado no processamento (L);

V_{soro} : volume de soro obtido após a dessoragem (L).

Essa equação expressa a fração do volume inicial de leite retida na massa do queijo, sendo um indicador indireto da retenção de umidade e da eficiência da dessoragem, especialmente relevante para queijos frescos de alta umidade, como o Cottage (Guinee, 2007; Fox et al., 2017; Furtado, 2019).

O parâmetro ΔE (Delta E) representa a variação global de cor entre duas amostras no espaço colorimétrico CIELab, sendo calculado a partir das diferenças individuais nos parâmetros L^* (luminosidade), a^* (eixo verde-vermelho) e b^* (eixo azul-amarelo). Matematicamente, o ΔE corresponde à distância euclidiana entre dois pontos nesse espaço tridimensional, conforme a equação:

Equação

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

Onde:

ΔL^* = variação na luminosidade;

Δa^* = variação no eixo verde-vermelho;

Δb^* = variação no eixo azul-amarelo.

2.3 Análise Estatística

Inicialmente, foram realizadas análises descritivas para todas as variáveis zootécnicas e físico-químicas do leite, incluindo número de partos, dias em lactação, escore de condição corporal, produção de leite, percentual de gordura, percentual de proteína, lactose, sólidos totais, contagem de células somáticas (CCS), pH, estabilidade à prova de álcool e acidez titulável. Foram calculadas média, desvio padrão, valores mínimo e máximo e número de observações (n), considerando-se a faixa da prova de álcool e a estação do ano.

Para avaliar os efeitos da faixa da prova de álcool ($< 72\%$ e $\geq 72\%$), da estação do ano (outono, inverno, primavera e verão) e da raça (Holandesa e Jersey) sobre as características do leite, foi utilizado modelo linear misto, considerando como efeitos fixos a raça, a estação do ano, a faixa da prova de álcool e suas interações. O animal foi incluído como efeito aleatório, a fim de considerar a dependência das medidas repetidas ao longo do tempo.

Quando identificados efeitos significativos ($p < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com ajuste para comparações múltiplas.

Para as variáveis que não atenderam aos pressupostos de normalidade dos resíduos e homogeneidade de variâncias, foram aplicadas transformações apropriadas ou utilizados procedimentos alternativos compatíveis com a distribuição dos dados. Os dados coletados foram submetidos à análise estatística utilizando o software R (R Core Team, 2024), versão 4.4.1.

Adicionalmente, foram conduzidas análises de correlação de Pearson para investigar as associações lineares entre variáveis zootécnicas e físico-químicas do leite, especialmente para a raça Holandesa. As correlações foram classificadas como fracas ($r < 0,3$), moderadas ($0,3 \leq r < 0,6$) ou fortes ($r \geq 0,6$), conforme proposto por Filho e Da Silva (2009).

Foi realizada ainda análise específica para amostras com estabilidade inferior a 72% (v/v), com o objetivo de identificar padrões de associação característicos de leite instável não ácido.

O nível de significância adotado em todas as análises foi de 5% ($p < 0,05$).

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Resultados do Leite da Raça Holandesa

A Tabela 2 apresenta as médias e desvios-padrão dos parâmetros zootécnicos e físico-químicos do leite de vacas da raça Holandesa, distribuídos por estação do ano. Durante o

verão, observou-se maior número médio de partos (3,02), maior produção de leite (50,28 kg/dia) e menor número de dias em lactação (DEL) (143,95). O aumento progressivo no número de partos ao longo das estações não está relacionado diretamente à sazonalidade, mas ao cronograma de coleta, iniciado no inverno de 2024 e finalizado no verão de 2025, período no qual parte dos animais evoluiu em ordem de lactação.

Tabela 2 - Efeito da estação do ano sobre características zootécnicas e físico-químicas do leite de vaca da raça Holandesa.

Parâmetro	Inverno	Outono	Primavera	Verão	p-valor
Nº partos	2,78 ± 0,98 b	2,15 ± 1,16 c	2,80 ± 0,95 b	3,02±1,05 a	<0,001
DEL	188,37±86,5 b	213,17±118,7 ab	200,23±85,1 b	143,95±94,1 c	<0,001
ECC	3,25 ± 0,17	3,23 ± 0,20	3,28 ± 0,16	3,21 ± 0,19	0,183
PL	47,76±8,9 ab	40,70± 10,4 c	43,70±9,0 bc	50,28± 8,19 a	<0,001
Gor (%)	3,40 ± 0,88 c	3,92 ± 0,66 b	4,11 ± 0,72 a	3,21 ± 0,82 c	<0,001
Prot (%)	3,37 ± 0,34	3,49 ± 0,33	3,43 ± 0,37	3,34 ± 0,29	0,072
Lact (%)	4,77 ± 0,22 a	4,66 ± 0,35 ab	4,62 ± 0,27 b	4,67 ± 0,20 ab	0,024
ST (%)	12,55±1,15 bc	12,98 ± 0,92 ab	13,16±0,94 a	12,13±1,02 c	<0,001
CCS	72,92 ± 115,4 b	73,22 ± 85,59 b	143,98±79,9 ab	229,98±514 a	0,013
pH	6,98 ± 0,17 b	7,04 ± 0,14 a	6,72 ± 0,04 c	6,97 ± 0,08 b	<0,001
Estab	80,7 ± 8,93 b	85,08 ± 4,34 a	82,50 ± 5,08 ab	84,87 ± 6,61 a	<0,001
Acidez	0,18 ± 0,03	0,15 ± 0,02	0,16 ± 0,01	0,18 ± 0,16	0,157

*Estabilidade do leite ao etanol nas concentrações de 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90v/v; Nível de significância adotado: 5% ($p < 0,05$). DEL: dias em lactação. ECC: escore de condição corporal. PL: produção de leite. CCS: contagem de células somáticas ($\times 10^3$ células/mL). Prot: proteína. Gord: gordura. Acidez: g ácido láctico/100 mL. Estab.: estabilidade (v/v). Fonte: A autora, (2025).

A maior produção registrada no verão pode ser explicada pelo menor DEL observado nessa estação, uma vez que vacas em início de lactação apresentam maior potencial produtivo. Comportamento semelhante foi verificado no inverno, quando o DEL (188,37 dias) foi inferior ao observado no outono (213,7 dias) e na primavera (200,23 dias), refletindo maior produção (47,76 kg/dia). Segundo Ribas et al. (2001), o pico de lactação ocorre entre 45 e 54 dias pós-parto, corroborando o padrão observado.

O escore de condição corporal (ECC) foi menor no verão (3,21), sugerindo maior mobilização de reservas corporais para sustentar a produção elevada, possivelmente intensificada pelo estresse térmico característico da estação (Demment; Van Soest, 1985; West et al., 2018).

Os maiores teores de gordura foram observados na primavera (4,11%) e no outono (3,92%), com redução no verão (3,21%). Esse comportamento pode estar associado ao estresse térmico, que reduz a ingestão de fibra efetiva e altera o padrão de fermentação ruminal (Peres et al., 2001).

O teor de proteína apresentou padrão semelhante, com valores mais elevados no outono (3,49%) e primavera (3,43%) e redução no verão (3,34%). Estudos relatam variações sazonais desses componentes, com tendência de redução nos meses mais quentes (Bondan et al., 2018).

A lactose apresentou menor variação entre as estações, indicando maior relação com o volume de produção do que com fatores ambientais (Fagnani et al., 2014).

Os sólidos totais acompanharam o comportamento da gordura e proteína, sendo mais elevados na primavera (13,16%) e no outono (12,98%) e menores no verão (12,13%).

A contagem de células somáticas (CCS) apresentou aumento no verão (229,98 mil células/mL) e na primavera (143,98 mil células/mL), em comparação ao inverno (72,92 mil células/mL) e ao outono (73,22 mil células/mL). Esse padrão é consistente com a literatura, que relaciona temperaturas elevadas e maior umidade à maior ocorrência de mastite subclínica (Santos; Fonseca, 2007; Ruegg, 2017). Ainda assim, os valores médios indicam adequada sanidade do rebanho.

O pH variou entre 6,72 (primavera) e 7,04 (outono), mantendo-se predominantemente dentro da faixa considerada normal para leite cru (6,6–6,9) (Gomes et al., 2011). O valor mais baixo na primavera pode estar relacionado ao aumento da CCS, enquanto o pH ligeiramente superior no outono pode indicar maior estabilidade coloidal.

A estabilidade do leite na prova do álcool foi alta em todas as estações do ano avaliadas, estando acima de 80%. No outono, a maior estabilidade esteve associada ao pH mais elevado e a baixa CCS. No verão, apesar da CCS mais alta, a estabilidade permaneceu elevada (84,87%), sugerindo que a instabilidade não foi diretamente relacionada à acidificação, mas possivelmente a alterações na fração mineral e proteica do leite, características do leite instável não ácido (LINA) (Zanela, 2009; Ruegg, 2017).

No inverno, verificou-se menor estabilidade (80,7%) do leite, indicando possível influência de fatores metabólicos e minerais na dinâmica de coagulação, uma vez que a estabilidade alcoólica é fortemente dependente do equilíbrio entre pH, cálcio iônico e proteínas do soro (Fonseca; Santos, 2000; Zanela et al., 2018).

A acidez titulável variou entre 0,15 (outono) e 0,18 g de ácido láctico/100 mL (inverno e verão), permanecendo dentro dos padrões estabelecidos pela IN nº 76/2018. As variações observadas podem estar associadas a fatores ambientais e metabólicos próprios de cada estação.

No verão, a maior acidez reflete as condições ambientais adversas, como altas temperaturas e maior umidade, que favorecem a atividade microbiana e a fermentação da lactose (Ruegg, 2017; Zanela, 2009). O outono apresentou a acidez mais baixa (0,15 g/100 mL), indicando equilíbrio fisiológico e bom estado sanitário, enquanto na primavera a acidez se manteve intermediária (0,16 g/100 mL), dentro da faixa ideal, condizendo com resultados de Fernandes et al. (2013). Esses resultados reforçam que a estabilidade do leite depende de um

equilíbrio complexo entre pH, composição mineral e condição sanitária, todos influenciados pela sazonalidade. Além disso, os valores indicam boa nutrição e manejo do rebanho, minimizando efeitos de estresse calórico e favorecendo a ocorrência de leite de qualidade.

A Tabela 3 apresenta as médias e, o desvio-padrão por faixa de estabilidade do leite pela prova do álcool das variáveis zootécnicas, físico-químicas e de qualidade do leite de vacas da raça Holandesa.

Tabela 3 - Características produtivas e composicionais do leite em vacas da raça Holandesa segundo a faixa do teste do álcool.

Parâmetro	< 72%	≥ 72%	p-valor
Nº partos	3,35 ± 1,00	2,64 ± 1,07	0,009
DEL	190,35 ± 89,32	185,73 ± 100,86	0,850
ECC	3,28 ± 0,15	3,24 ± 0,18	0,350
PL (kg/dia)	48,41 ± 11,38	45,36 ± 9,71	0,270
Gor (%)	3,52 ± 1,01	3,67 ± 0,84	0,530
Prot (%)	3,37 ± 0,39	3,41 ± 0,33	0,670
Lact (%)	4,60 ± 0,26	4,69 ± 0,27	0,190
ST (%)	12,47 ± 1,39	12,72 ± 1,06	0,440
CCS (x10 ³ células/mL)	174,94 ± 267,73	127,12 ± 310,36	0,520
pH	6,79 ± 0,23	6,94 ± 0,16	<0,001
Estab	66,00 ± 2,24	84,60 ± 4,82	<0,001
Acidez (°D)	0,18 ± 0,04	0,16 ± 0,09	0,270

*Estabilidade do leite ao etanol nas concentrações de 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90v/v; Nível de significância adotado: 5% ($p < 0,05$). DEL: dias em lactação. ECC: escore de condição corporal. PL: produção de leite. CCS: contagem de células somáticas (x10³ células/mL). Prot: proteína. Gord: gordura. Acidez: g ácido láctico/100 mL. Estab.: estabilidade (v/v). Fonte: A autora, (2025).

A análise de variância (ANOVA) demonstrou que a faixa de prova de álcool (acima de 72% ou abaixo de 72%) sofreu influência significativa do pH, do número de partos e, como esperado, a própria prova de álcool.

O teste de Tukey indicou que o pH foi significativamente maior nas amostras de leite com estabilidade ≥ 72% (6,94 ± 0,16) em comparação ao grupo < 72% (6,79 ± 0,23). Estes resultados sugerem que a instabilidade não está associada à redução do pH, mas sim a alterações na composição mineral e proteica do leite, corroborando estudos que destacam o papel do cálcio iônico e das proteínas do soro na estabilidade coloidal da caseína (Fagundes et al., 2006; Costa et al., 2019).

Observou-se também efeito significativo do número de partos, indicando que vacas em diferentes ordens de lactação apresentam composições de leite distintas, o que pode afetar sua estabilidade frente ao teste do álcool. Vacas com prova do álcool < 72% apresentaram média de partos significativamente maior (3,35 ± 1,00) em relação às vacas com prova ≥ 72% (2,64 ± 1,07), confirmando a maior predisposição de vacas multíparas à ocorrência de leite instável não ácido. Esse fenômeno pode estar relacionado à redução da absorção intestinal e mobilização óssea de cálcio em vacas mais velhas, aumentando o risco de hipocalcemia e instabilidade do

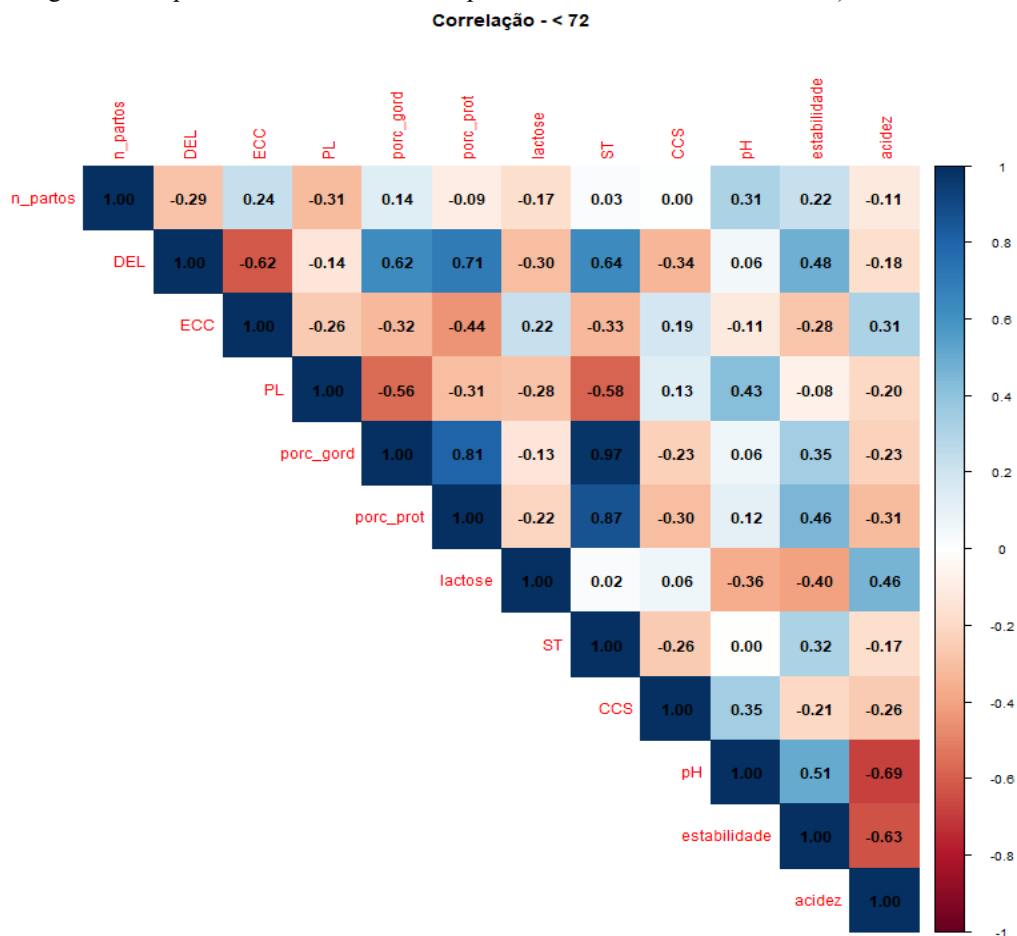
leite, enquanto vacas primíparas mantêm maior eficiência na regulação de minerais séricos mesmo sob aporte nutricional limitado (Fruscalso, 2007).

Quanto à composição do leite da raça Holandesa, não foram observadas diferenças significativas entre as faixas de prova de álcool para percentual de gordura, proteína, sólidos totais, CCS, DEL, ECC, produção de leite, acidez e lactose, sugerindo que o LINA não está diretamente associado a esses parâmetros. Estudos anteriores em rebanhos brasileiros corroboram que leites classificados como leite instável apresentam diferenças apenas em lactose e acidez titulável (EMBRAPA, 2023), embora Machado (2017) tenha relatado maior proteína e lactose em leites de alta estabilidade alcoólica, além de menor acidez. De forma semelhante, análises multifatoriais apontam que a ocorrência de leite instável está mais relacionada a fatores nutricionais e à interação entre lactose e sólidos não gordurosos do que à gordura e proteína do leite (Fruscalso et al., 2021).

Dessa forma, os resultados aqui apresentados reforçam a natureza multifatorial do LINA e indicam que, no rebanho avaliado, apenas o pH e o número de partos estiveram significativamente associados à estabilidade alcoólica do leite.

Na Figura 2, encontram-se os coeficientes de correlação entre as variáveis analisadas, considerando apenas as amostras com estabilidade inferior a 72% (entre 64 e 70%).

Figura 2- Correlações de Pearson entre características do leite da raça Holandesa (número de partos, DEL, ECC, produção, % gordura, % proteína, lactose, ST, CCS, pH, estabilidade ao álcool e acidez) em amostras co



Fonte: A autora, (2025).

A análise de correlação de Pearson realizada com amostras de leite de vacas da raça Holandesa com estabilidade ao álcool inferior a 72% indicou que a prova do álcool não apresentou associação relevante com a maioria das variáveis zootécnicas e físico-químicas do leite, evidenciando que a instabilidade observada nesse grupo não é explicada por um único fator isolado.

A análise de correlação de Pearson realizada com amostras de leite com estabilidade inferior a 72% demonstrou associações mais evidentes entre a estabilidade alcoólica e variáveis físico-químicas, especialmente pH e acidez titulável.

A estabilidade apresentou correlação moderada e positiva com o pH ($r = 0,51$), indicando que valores mais elevados de pH estiveram associados a maior resistência à coagulação alcoólica. Esse resultado reforça o papel do pH no equilíbrio coloidal das micelas de caseína e na estabilidade físico-química do leite.

Em contrapartida, observou-se correlação negativa expressiva entre estabilidade e acidez titulável ($r = -0,63$), evidenciando que maiores níveis de acidez estiveram associados à

menor estabilidade ao álcool. Esse comportamento confirma a influência direta do equilíbrio ácido-base na manutenção da estabilidade proteica.

Entre os constituintes do leite, destacaram-se correlações moderadas e positivas com proteína ($r = 0,46$), gordura ($r = 0,35$) e sólidos totais ($r = 0,32$), enquanto a lactose apresentou correlação negativa moderada ($r = -0,40$). Esses resultados sugerem que a estabilidade alcoólica pode estar relacionada ao equilíbrio entre frações sólidas e composição mineral do leite.

Entre as variáveis zootécnicas, os dias em lactação apresentaram correlação moderada positiva com a estabilidade ($r = 0,48$), enquanto ECC ($r = -0,28$), CCS ($r = -0,21$) e produção de leite ($r = -0,08$) mostraram associações fracas.

Em síntese, diferentemente da interpretação inicial, a estabilidade ao álcool no grupo <72% demonstraram associação consistente com pH e acidez titulável, além de correlações moderadas com proteína e dias em lactação, indicando que, nesse subconjunto, a instabilidade apresenta relação mais evidente com fatores físico-químicos.

2.3.2 Resultados do Leite da Raça Jersey

A Tabela 4 apresenta as médias e desvios-padrão dos parâmetros zootécnicos e físico-químicos do leite de vacas Jersey, distribuídos por estação do ano.

Tabela 4 - Efeito da estação do ano sobre características zootécnicas e físico-químicas do leite de vacas da raça Jersey.

Parâmetro	Inverno	Outono	Primavera	Verão	p-valor
Nº partos	2,12 ± 0,72	1,93 ± 0,78	2,08 ± 0,79	2,25 ± 0,75	0,155
DEL	201,47 ± 79,5 b	274,3 ± 111 a	219,52 ± 89,7 b	255,92 ± 122 a	<0,001
ECC	3,13 ± 0,22	-	3,15 ± 0,22	3,15 ± 0,28	0,908
PL	22,57 ± 5,36	22,92 ± 4,88	22,53 ± 5,17	21,80 ± 4,98	0,680
Gor (%)	5,07 ± 0,92 a	4,08 ± 0,87 b	4,14 ± 0,74 b	5,03 ± 0,79 a	<0,001
Prot (%)	3,87 ± 0,41 a	3,83 ± 0,35 ab	3,73 ± 0,35 ab	3,66 ± 0,36 b	0,006
Lact (%)	4,47 ± 0,25	4,55 ± 0,28	4,54 ± 0,19	4,51 ± 0,23	0,289
ST (%)	14,47 ± 1,25 a	13,57 ± 1,12 b	13,45 ± 1,02 b	14,21 ± 1,08 a	<0,001
CCS	467,9 ± 1467,8	168,45 ± 346,90	287,07 ± 600,67	615,52 ± 1071	0,063
pH	7,16 ± 0,13	6,96 ± 0,15	6,91 ± 0,12	6,84 ± 0,06	0,108
Estab	84,10 ± 3,82 a	84,93 ± 4,06 a	83,87 ± 3,72 a	77,17 ± 6,87 b	<0,001
Acidez	0,17 ± 0,03 a	0,16 ± 0,03 b	0,18 ± 0,02 a	0,16 ± 0,01 b	<0,001

*Estabilidade do leite ao etanol nas concentrações de 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90v/v; Nível de significância adotado: 5% ($p < 0,05$). DEL: dias em lactação. ECC: escore de condição corporal. PL: produção de leite. CCS: contagem de células somáticas ($\times 10^3$ células/mL). Prot: proteína. Gord: gordura. Acidez: g ácido láctico/100 mL. Estab.: estabilidade (v/v). Fonte: A autora, (2025).

A análise de variância (ANOVA) demonstrou que a estação do ano exerceu influência significativa sobre diversas variáveis do leite de vacas da raça Jersey, evidenciando o impacto da sazonalidade sobre parâmetros produtivos e qualitativos.

A sazonalidade afetou parcialmente as características do leite da raça Jersey, com diferenças observadas principalmente na composição físico-química e na estabilidade proteica.

Os dias em lactação (DEL) foram maiores no outono ($274,33 \pm 110,96$) e no verão ($255,92 \pm 122,03$) em comparação ao inverno ($201,47 \pm 79,54$) e à primavera ($219,52 \pm 89,67$) ($p < 0,001$), possivelmente refletindo a distribuição dos partos ao longo do ano e a dinâmica fisiológica do rebanho.

Entre os componentes do leite, a gordura apresentou maiores valores no inverno ($5,07 \pm 0,92\%$) e no verão ($5,03 \pm 0,79\%$), enquanto outono e primavera registraram menores concentrações ($p < 0,001$). Esse comportamento é frequentemente associado a alterações na dieta, disponibilidade de forragem e condições térmicas, que modulam o metabolismo energético e a concentração dos sólidos (Henrichs; Macedo; Karam, 2014).

A proteína seguiu tendência semelhante, com maior teor no inverno ($3,87 \pm 0,41\%$) e menor no verão ($3,66 \pm 0,36\%$) ($p = 0,006$). Em temperaturas mais amenas, o menor estresse térmico favorece o consumo de matéria seca e a eficiência metabólica, contribuindo para maior

síntese proteica (Busanello et al., 2020; Nogara et al., 2022). Já no verão, o estresse calórico reduz a ingestão alimentar e pode limitar a disponibilidade de aminoácidos para produção de proteína do leite (Tadesse et al., 2024).

Os sólidos totais acompanharam o comportamento da gordura, com maiores valores no inverno e verão ($p < 0,001$), reforçando a influência conjunta de fatores climáticos e nutricionais sobre a concentração dos componentes do leite (Heck et al., 2009).

A acidez titulável foi ligeiramente superior na primavera e no inverno em relação ao outono e verão ($p < 0,001$), variação que pode estar relacionada à qualidade das pastagens e às modificações no perfil fermentativo ruminal (Santos et al., 2011).

A estabilidade ao etanol foi menor no verão ($77,17 \pm 6,87\%$) do que nas demais estações ($p < 0,001$), indicando maior predisposição à instabilidade proteica nesse período. O estresse térmico altera o equilíbrio mineral e o metabolismo do cálcio, comprometendo a integridade das micelas de caseína e favorecendo a ocorrência de instabilidade (Fruscalso, 2007; Lemos et al., 2020).

Por outro lado, número de partos, escore de condição corporal, produção de leite, lactose, pH e CCS não apresentaram variação estatística ao longo do ano ($p > 0,05$), sugerindo relativa estabilidade desses parâmetros no sistema avaliado.

De forma geral, os resultados evidenciam que a sazonalidade impacta principalmente os sólidos do leite e sua estabilidade proteica, enquanto variáveis produtivas e alguns indicadores sanitários permaneceram constantes, reforçando a importância do manejo ambiental e nutricional para mitigar efeitos climáticos adversos.

A Tabela 5 apresenta as médias, o desvio-padrão por faixa de prova de álcool das variáveis zootécnicas, físico-químicas e de qualidade do leite de vacas da raça Jersey dos dados coletados na propriedade durante o período do experimento.

Tabela 5 - Características produtivas e composicionais do leite em vacas da raça Jersey segundo a faixa do teste do álcool.

Parâmetro	< 72%	≥ 72%	p-valor
Nº partos	2,44 ± 0,63	2,07 ± 0,77	0,030
DEL	238,56 ± 118,12	237,75 ± 104,65	0,979
ECC	3,13 ± 0,30	3,14 ± 0,23	0,889
PL (kg/dia)	19,65 ± 3,49	22,65 ± 5,13	0,002
Gor (%)	4,73 ± 0,83	4,57 ± 0,96	0,473
Prot (%)	3,60 ± 0,36	3,79 ± 0,38	0,048
Lact (%)	4,54 ± 0,14	4,52 ± 0,25	0,612
ST (%)	13,87 ± 1,10	13,93 ± 1,20	0,838
CCS (x10 ³ células/mL)	398,44 ± 902,51	383,77 ± 988,59	0,951
pH	6,82 ± 0,09	7,60 ± 6,30	0,070
Estab	67,38 ± 1,89	83,60 ± 4,11	<0,001
Acidez (°D)	0,16 ± 0,02	0,17 ± 0,03	0,575

*Estabilidade do leite ao etanol nas concentrações de 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90v/v; Nível de significância adotado: 5% ($p < 0,05$). DEL: dias em lactação. ECC: escore de condição corporal. PL: produção de leite. CCS: contagem de células somáticas (x10³ células/mL). Prot: proteína. Gord: gordura. Acidez: g ácido láctico/100 mL. Estab.: estabilidade (v/v). Fonte: A autora, (2025).

A comparação das características produtivas e qualitativas do leite entre as faixas de prova do álcool (<72% e ≥72%) demonstrou que a instabilidade alcoólica esteve associada a diferenças pontuais, sem comprometimento generalizado da composição ou da qualidade sanitária do leite.

Observou-se maior número de partos no grupo <72% ($p = 0,030$), sugerindo possível influência da ordem de lactação sobre a estabilidade proteica. Alterações fisiológicas associadas à maturidade do tecido mamário podem modificar a proporção das frações proteicas e o equilíbrio salino do leite (Walstra; Wouters; Geurts, 2006).

A produção de leite foi superior na faixa ≥72% ($p = 0,002$), indicando que maior estabilidade não esteve relacionada à redução do desempenho produtivo. Segundo Fox e McSweeney (2015), a estabilidade ao álcool está mais associada ao equilíbrio entre cálcio iônico, fosfatos coloidais e organização das micelas de caseína do que ao volume produzido. Dessa forma, diferenças produtivas não necessariamente implicam alterações na estabilidade coloidal.

Entre os constituintes do leite, apenas o teor de proteína diferiu entre os grupos ($p = 0,048$), sendo mais elevado no grupo ≥72%. A proteína, especialmente a caseína, exerce papel central na estabilidade do leite frente ao etanol, uma vez que a coagulação alcoólica está diretamente relacionada à desestabilização das micelas caseínicas (Holt, 1992). Pequenas variações na concentração proteica ou na distribuição das frações podem alterar o limiar de precipitação, mesmo na ausência de mudanças expressivas em gordura ou sólidos totais.

Não foram observadas diferenças para gordura, lactose, sólidos totais, dias em lactação, escore de condição corporal ou contagem de células somáticas ($p > 0,05$). A ausência de variação na CCS e na acidez titulável ($p = 0,575$) indica que a menor estabilidade não esteve

associada a mastite ou acidificação microbiana. Esse comportamento é característico do leite instável, no qual ocorre precipitação no teste do álcool sem aumento da acidez ou comprometimento microbiológico (Marques et al., 2007; Zanela et al., 2006).

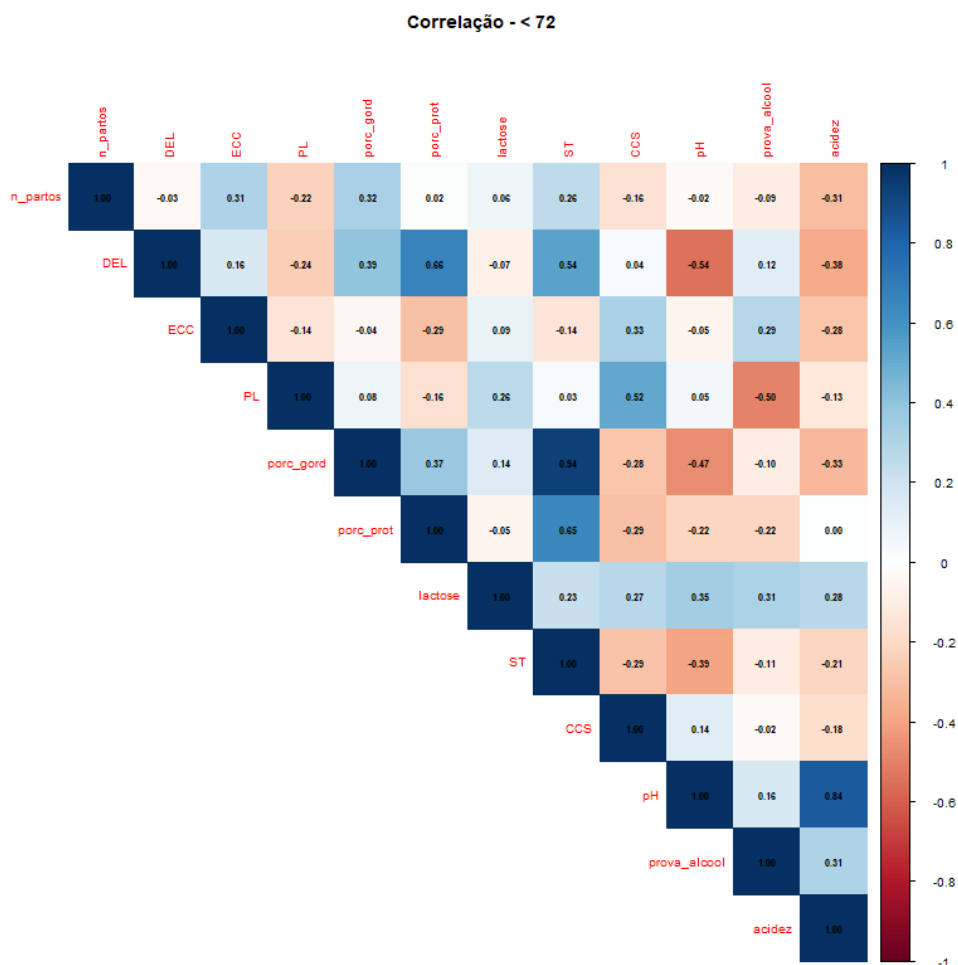
O pH apresentou tendência à diferença ($p = 0,070$), porém com elevada variabilidade no grupo $\geq 72\%$, sugerindo interferência de fatores individuais. O equilíbrio ácido-base do leite influencia a dissociação do cálcio e a estabilidade micelar, sendo pequenas alterações capazes de modificar a resposta ao etanol (Walstra; Wouters; Geurts, 2006).

De forma integrada, os resultados indicam que a instabilidade observada na faixa $<72\%$ estiveram mais relacionadas a variações discretas na fração proteica e possivelmente no equilíbrio mineral do que a alterações amplas na qualidade composicional ou sanitária. Esses achados reforçam a compreensão de que a instabilidade alcoólica pode decorrer de modificações estruturais nas micelas de caseína, sem necessariamente representar deterioração da matéria-prima.

Na Figura 3 são apresentados, a análise das correlações de Pearson para as amostras de leite da raça Jersey com estabilidade alcoólica inferior a 72% demonstrou um padrão distinto daquele observado em condições normais, caracterizado por associações predominantemente fracas entre as variáveis físico-químicas e a prova do álcool. A estabilidade ao álcool apresentou correlações fracas com a maioria dos constituintes do leite, incluindo gordura ($r = -0,10$), proteína ($r = -0,22$) e sólidos totais ($r = -0,11$), indicando que, dentro do grupo de leite instável ($<72\%$), a composição centesimal não foi o principal fator determinante da resistência alcoólica.

A lactose apresentou correlação positiva fraca ($r = 0,31$), sugerindo possível influência indireta associada ao estado metabólico da glândula mamária, embora não caracterize relação forte com a estabilidade. O pH apresentou correlação fraca e positiva ($r = 0,16$), enquanto a acidez titulável demonstrou correlação positiva fraca a moderada ($r = 0,31$), indicando que, embora não sejam determinantes isolados, variáveis relacionadas ao equilíbrio ácido-base podem exercer influência discreta sobre a estabilidade alcoólica. Entre as variáveis zootécnicas, destacou-se a correlação negativa moderada entre produção de leite e estabilidade ($r = -0,50$), sugerindo que maiores níveis produtivos podem estar associados à menor resistência à coagulação alcoólica. Número de partos ($r = -0,09$), dias em lactação ($r = 0,12$), ECC ($r = 0,29$) e CCS ($r = -0,02$) apresentaram associações fracas.

Figura 3 - Correlações de Pearson entre características do leite da raça Jersey (número de partos, DEL, ECC, produção, % gordura, % proteína, lactose, ST, CCS, pH, estabilidade ao álcool e acidez) em amostras com estabilidade inferior a 72% v/v.



Fonte: A autora (2025).

Em conjunto, os resultados indicam que, na raça Jersey, a instabilidade alcoólica abaixo de 72% apresenta comportamento predominantemente multifatorial, com influência discreta da composição e do equilíbrio ácido-base, além de possível relação com o nível produtivo das vacas.

2.3.3 Parâmetros físicos, químicos e tecnológicos do queijo Cottage

A Tabela 6 apresenta os resultados das análises tecnológicas, físicas e químicas e dos queijos Cottage elaborados a partir de leite estável e leite instável. De modo geral, observaram-se diferenças importantes no rendimento, composição e comportamento ácido dos produtos, indicando que a instabilidade do leite influenciou a formação da massa e o perfil final do queijo.

Tabela 6 - Características tecnológicas, físico-químicas e de composição dos queijos tipo Cottage produzidos a partir de leite estável e leite instável.

Parâmetro	Unidade	Leite Estável	Leite Instável	p-valor (Teste t)
Rendimento Industrial	%	15,16	16,43	0,065
Volume de leite utilizado	L	30,00	30,00	0,782
Volume de soro obtido	L	25,45	25,07	0,594
pH da massa		5,61 ± 0,09	5,47 ± 0,06	0,028
Acidez Titulável massa	°D	17,0 ± 0,82	17,0 ± 0,82	0,051
Proteína massa	%	9,28 ± 0,99	11,28 ± 1,31	<0,001
Gordura massa	%	23,00 ± 1,41	(22,00 ± 1,41	0,423
Umidade	%	64,74 ± 0,21	65,21 ± 0,09	0,264
Sólidos Totais	%	35,12 ± 0,28	34,92 ± 0,12	0,912
pH do queijo final		4,86 ± 0,12	4,91 ± 0,09	0,530
Proteína queijo final	%	8,6 ± 0,3	9,4 ± 0,5	0,012
Acidez queijo final	°D	15,75 ± 0,96	17,00 ± 0,82	0,095

Estabilidade do leite estável ao etanol na concentração de 74%, e de 70% do leite instável; Nível de significância adotado: 5% ($p < 0,05$). Fonte: A autora (2025).

O queijo produzido com leite instável apresentou rendimento industrial numericamente superior (16,43%) ao observado para o leite estável (15,16%). Da mesma forma, o volume de soro obtido foi ligeiramente menor no processamento do leite instável (25,07 L) em comparação ao leite estável (25,45 L). Entretanto, essas variações não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$), indicando que o comportamento tecnológico dos dois leites foi semelhante sob as condições experimentais avaliadas.

Mesmo sem diferença estatística, a tendência de maior rendimento associada ao menor volume de soro pode estar relacionada a alterações nas interações proteína–minerais características do leite instável não ácido, que favorecem a formação de uma rede de caseína mais hidratada e com menor sinérese. Esse fenômeno resulta em maior retenção de umidade na coalhada, refletindo em aumento do rendimento aparente do queijo, efeito frequentemente descrito em queijos frescos de alta umidade (Fox et al., 2017; Walstra et al., 2006; Lucey, 2002).

O pH da massa obtida a partir de leite instável foi significativamente inferior ao observado na massa produzida com leite estável, apresentando valores de $5,47 \pm 0,06$ e $5,61 \pm 0,09$, respectivamente. A acidez titulável da massa não diferiu entre os tratamentos, com médias de $17,0 \pm 0,82$ °D para ambos os grupos.

Valores menores de pH no leite instável podem estar associados à maior sensibilidade térmica das micelas de caseína, que, quando desestabilizadas, permitem maior exposição de fosfatos e grupos ácidos, aumentando a tendência de acidificação do meio (Walstra et al., 2006).

Foram observadas diferenças importantes na composição da massa do queijo Cottage. A proteína total foi maior no queijo com leite instável ($11,28 \pm 1,31\%$) em comparação ao queijo de leite estável ($9,28 \pm 0,99\%$). Esse aumento sugere uma maior retenção proteica no gel formado pelo leite instável, corroborando o maior rendimento observado.

O teor de gordura na massa apresentou redução no queijo produzido com leite instável ($22,00 \pm 1,41\%$) em comparação ao leite estável ($23,00 \pm 1,41\%$). Embora a diferença não tenha sido expressiva, esse comportamento pode estar relacionado às alterações na composição e no equilíbrio coloidal típicos do leite instável não ácido.

O leite instável frequentemente apresenta modificações na relação entre proteínas, minerais e fase aquosa, resultando em uma matriz de caseína mais hidratada e com menor sinérese. Esse aumento na retenção de umidade provoca um efeito de diluição dos constituintes sólidos, reduzindo proporcionalmente a concentração percentual de gordura na massa do queijo. Além disso, alterações na organização micelar e na firmeza do gel podem favorecer maior perda de glóbulos de gordura juntamente com o soro durante as etapas de corte e lavagem da coalhada, especialmente em queijos frescos de grãos pequenos, como o Cottage (Fox et al., 2017; Walstra et al., 2006; Lucey, 2002).

Dessa forma, a menor porcentagem de gordura observada no queijo com leite instável parece resultar tanto do maior teor de umidade quanto de possíveis diferenças na retenção de gordura na matriz proteica, refletindo o impacto das características físico-químicas do leite de origem sobre a composição final do produto.

O queijo Cottage produzido com leite instável apresentou maior teor de umidade em comparação ao queijo elaborado com leite estável. Consequentemente, observou-se tendência de menor concentração de sólidos totais, resultado esperado, uma vez que umidade e sólidos apresentam relação inversa na matriz do queijo. Esse comportamento indica que o leite instável favoreceu a formação de uma coalhada com maior retenção de fase aquosa, sugerindo modificações na organização da rede proteica durante a coagulação.

Alterações no equilíbrio mineral do leite, especialmente na fração de cálcio iônico, influenciam diretamente a estabilidade das micelas de caseína e as interações proteína-proteína responsáveis pela formação do gel. Modificações nesse sistema podem resultar em uma estrutura de gel menos compacta e mais hidratada, com maior aprisionamento de soro na matriz, o que se reflete em produtos com maior umidade e menor teor relativo de sólidos (Lucey, 2002; Walstra; Wouters; Geurts, 2006; Fox et al., 2017).

Esse mecanismo é coerente com as características do leite instável, no qual a instabilidade ao etanol está associada a desequilíbrios físico-químicos que afetam a integridade das micelas de caseína.

No produto, o pH apresentou valores próximos entre os tratamentos, enquanto a acidez titulável mostrou pequena variação. Esse comportamento pode ser explicado pelo sistema tampão do leite, exercido principalmente pelas caseínas, fosfatos e citratos, que limita oscilações acentuadas de pH mesmo diante de alterações na concentração de ácido láctico (Horne, 2006; Walstra; Wouters; Geurts, 2006). Assim, diferenças na acidez nem sempre se traduzem em variações proporcionais de pH.

Observou-se maior teor de proteína no queijo elaborado com leite instável, indicando maior retenção da fração proteica na coalhada. Esse comportamento pode estar associado às alterações no equilíbrio mineral e nas interações entre caseínas e cálcio, que influenciam a estrutura do gel formado durante a coagulação. Géis com menor sinérese tendem a reter maior quantidade de proteínas e fase aquosa, modificando a composição final do produto.

Esses resultados demonstram que a instabilidade proteica característica do leite instável não inviabiliza a fabricação do queijo Cottage, mas altera a dinâmica de coagulação e a organização da matriz proteica, refletindo principalmente na retenção de umidade e na composição do queijo. Esse comportamento é compatível com o conhecimento sobre o papel das micelas de caseína, do cálcio coloidal e das interações proteicas na formação de queijos frescos de alta umidade (Lucey, 2002; Walstra; Wouters; Geurts, 2006; Fox *et al.*, 2017).

Os resultados da análise instrumental de textura indicam que o uso de leite instável promoveu alterações significativas em diversos parâmetros mecânicos do queijo tipo Cottage, conforme a Tabela 7.

Tabela 7 - Parâmetros de textura instrumental dos queijos tipo Cottage produzidos a partir de leite estável e leite instável.

Variável	p-valor (ANOVA)	Leite instável	Leite Estável
Dureza	0,051	370,84 ± 39,23	295,34 ± 62,41
Adesividade	0,420	-186,79 ± 35,21	-131,18 ± 66,61
Elasticidade	0,026	0,93 ± 0,03	0,86 ± 0,19
Coesividade	0,023	0,72 ± 0,06	0,59 ± 0,08
Mastigabilidade	0,002	244,64 ± 19,94	166,56 ± 77,97
Resiliência	0,002	0,124 ± 0,006	0,100 ± 0,009

Estabilidade do leite estável ao etanol na concentração de 74%, e de 70% do leite instável Nível de significância adotado: 5% ($p < 0,05$). Fonte: A autora (2025).

Em relação aos parâmetros clássicos do perfil de textura, a maior elasticidade observada nos queijos elaborados com leite instável indica maior capacidade de recuperação da estrutura após a deformação, enquanto a maior coesividade sugere maior integridade da matriz interna do produto. Esses resultados apontam para uma rede proteica mais contínua e menos suscetível

à ruptura, característica relacionada à organização das caseínas durante a coagulação e ao arranjo estrutural do gel formado (Lucey & Singh, 2003; Walstra et al., 2006).

Como consequência, os valores superiores de mastigabilidade e resiliência nos queijos produzidos com leite instável indicam maior energia requerida durante a mastigação e maior capacidade do produto de recuperar sua forma após compressão. Esses parâmetros são diretamente influenciados pela elasticidade e pela coesão da matriz proteica, especialmente em queijos frescos, como o Cottage, nos quais o elevado teor de umidade e a organização estrutural das proteínas exercem papel determinante na textura final (Fox et al., 2017).

Por outro lado, a ausência de diferenças significativas para dureza e adesividade indica que, apesar das alterações estruturais observadas, a resistência inicial à compressão e as forças de adesão entre o produto e a sonda não foram substancialmente afetadas pelo tipo de leite utilizado. Esse comportamento pode estar associado ao elevado teor de umidade característico do queijo Cottage, que tende a suavizar diferenças nesses atributos texturais (Tunick, 2000; Lucey, 2002).

A cor instrumental dos queijos tipo Cottage produzidos a partir de leite estável e leite instável está apresentada na Tabela 5.

Tabela 8 - Parâmetros de cor instrumental (L^* , a^* , b^*) dos queijos tipo Cottage produzidos a partir de leite normal e leite instável.

Parâmetro	Leite Instável	Leite estável	p-valor
L^*	$91,93 \pm 0,78$	$92,59 \pm 0,52$	0,166
a	$0,59 \pm 0,11$	$0,76 \pm 0,06$	0,019
b	$14,42 \pm 0,15$	$14,84 \pm 0,28$	0,025
ΔE	0,80	-	-
WI*	83,47	83,39	-

* L : Luminosidade. *WI: índice de brancura. Nível de significância adotado: 5% ($p < 0,05$). Fonte: A autora (2025).

A luminosidade (L) não diferiu significativamente entre os tratamentos ($p = 0,166$), indicando que ambos os queijos apresentaram a coloração clara característica de queijos frescos. Valores elevados de L refletem maior refletância da luz, associada ao elevado teor de umidade e à dispersão da fase proteica na matriz do produto, fatores que aumentam a difusão da luz e reduzem a absorção óptica (Fox et al., 2017; Walstra et al., 2006).

Foram observadas diferenças significativas nos parâmetros a e b . O queijo produzido com leite estável apresentou maior valor de a ($0,76 \pm 0,06$) em comparação ao queijo instável ($0,59 \pm 0,11$) ($p = 0,019$). Embora os valores absolutos sejam baixos, como esperado para queijos brancos, essa diferença indica uma variação sutil na tonalidade, possivelmente relacionada a alterações na microestrutura da matriz e na distribuição de umidade, que influenciam a dispersão da luz no produto (Mcsweeney & Fox, 2013).

O parâmetro b , relacionado à intensidade de amarelo, também foi maior no queijo estável ($14,84 \pm 0,28$) do que no LINA ($14,42 \pm 0,15$) ($p = 0,025$). A coloração amarelada em queijos está associada principalmente à fração lipídica e à presença de carotenoides, além de ser influenciada pelo teor de sólidos e pela organização estrutural da matriz (Lucey et al., 2003; Fox et al., 2017). Considerando que os queijos com leite instável apresentaram maior umidade e leve redução proporcional de gordura, a diluição de compostos lipossolúveis pode ter contribuído para a menor intensidade de amarelo observada.

Apesar dessas diferenças instrumentais, a diferença total de cor entre os tratamentos, expressa pelo ΔE , foi de 0,80. Valores de ΔE inferiores a 1 são considerados imperceptíveis ao olho humano, indicando que as variações observadas não resultaram em alteração visual detectável na aparência dos queijos (PatharE et al., 2013).

Quanto maior o valor de ΔE , maior é a diferença perceptível entre as cores. De maneira geral, valores inferiores a 1 são imperceptíveis ao olho humano; entre 1 e 3 indicam pequena diferença visual; e valores superiores a 3 representam diferenças facilmente perceptíveis (Minolta, 2007; Pathare; Opara; Al-said, 2013).

Assim, o ΔE permite avaliar se as variações instrumentais observadas nos parâmetros individuais realmente resultam em alteração visual significativa do produto.

O índice de brancura (WI) também apresentou valores muito próximos entre os tratamentos (83,47 para leite instável e 83,39 para o estável), confirmando que ambos mantiveram elevada característica de brancura típica de queijos frescos. O WI é fortemente influenciado pela luminosidade e pela baixa intensidade dos componentes cromáticos, estando associado à alta umidade e à dispersão da fase proteica, que promovem maior espalhamento da luz na matriz do queijo (Walstra et al., 2006; Fox et al., 2017). Assim, os resultados indicam que o uso de leite instável não comprometeu o padrão visual de brancura do queijo tipo Cottage.

De modo geral, os resultados demonstram que o uso de leite instável promoveu modificações na textura instrumental do queijo Cottage, principalmente nos parâmetros relacionados à elasticidade e à coesão da matriz proteica, o que pode influenciar a percepção sensorial e o desempenho tecnológico do produto. Entretanto, considerando que o queijo Cottage é um produto no qual se espera elevada cremosidade e espalhabilidade, tais alterações não necessariamente comprometem sua aplicação tecnológica ou culinária, indicando que, sob o ponto de vista da textura, a utilização de leite instável é viável na elaboração do queijo tipo Cottage.

Os efeitos observados do uso de leite instável na fabricação do queijo Cottage apresentam paralelos importantes com estudos conduzidos em outros tipos de queijo, especialmente a muçarela, que é amplamente utilizada como modelo para avaliação do comportamento funcional de proteínas do leite durante a coagulação e o aquecimento.

O maior rendimento industrial observado no queijo Cottage elaborado com leite instável está de acordo com resultados descritos para muçarela produzida com leites de maior retenção proteica e mineral. Em queijos de massa filada, como a muçarela, alterações no equilíbrio mineral do leite, particularmente na relação cálcio-caseína favorecem maior incorporação de proteínas séricas desnaturadas na matriz, resultando em aumento do rendimento e menor sinérese (Lucey et al., 2003; Fox et al., 2017). Esse mesmo mecanismo pode explicar o maior teor de proteína encontrado na massa e no queijo final do presente estudo, sugerindo que a instabilidade do LINA favoreceu a retenção de frações proteicas que normalmente seriam perdidas no soro.

A maior umidade observada no queijo Cottage com leite instável também encontra respaldo em pesquisas com muçarela, nas quais modificações na estrutura da rede de caseína resultam em géis mais hidratados e com maior capacidade de retenção de água (Kindstedt & Fox, 1993; Hartley et al., 2022). Em queijos de pasta filada, esse aumento de umidade está frequentemente associado a textura mais elástica e menos quebradiça, comportamento semelhante ao observado neste estudo, em que os queijos LINA apresentaram maior elasticidade, coesividade e resiliência.

Do ponto de vista estrutural, a maior coesividade e elasticidade do queijo com leite instável indicam formação de uma rede proteica mais contínua, característica também relatada em muçarelas com maior retenção de proteínas do soro e alterações na dissociação micelar (Lucey & Singh, 2003). Nessas condições, ocorre reorganização das micelas de caseína durante a coagulação, formando uma matriz menos fragmentada e com maior capacidade de deformação, o que explica os maiores valores de mastigabilidade observados.

O comportamento do pH também é comparável ao observado em queijos de massa filada. Valores ligeiramente mais baixos de pH na massa e no queijo final com leite instável favorecem maior solubilização de cálcio coloidal, promovendo rearranjo estrutural das caseínas e maior plasticidade da matriz (Fox et al., 2017). Em muçarela, esse fenômeno é essencial para o desenvolvimento das propriedades de fusão e estiramento; embora o Cottage não seja submetido à filagem, a mesma base estrutural pode explicar as diferenças de textura observadas.

Além disso, estudos com queijos frescos e de alta umidade relatam que alterações na estabilidade proteica do leite influenciam a retenção de água, a organização da rede caseína e as propriedades mecânicas do produto (Tunick, 2000; Walstra et al., 2006).

Resultados compatíveis foram observados por Almeida (2023) ao avaliar queijo muçarela produzido com leite de diferentes níveis de estabilidade ao etanol. A autora verificou variações significativas no pH e nas propriedades de derretimento, além de alterações na coesividade e elasticidade da massa, atribuídas a mudanças na estabilidade das micelas de caseína e na interação proteína-água. Esses efeitos refletem modificações na estrutura do gel proteico semelhantes às observadas no presente estudo, nas quais o leite instável resultou em maior retenção de umidade e mudanças na proporção dos constituintes, com reflexos na textura.

Em conjunto, esses achados indicam que os efeitos da instabilidade do leite não são exclusivos do queijo Cottage, mas refletem alterações fundamentais na organização da rede caseína, semelhantes às observadas em muçarela e outros queijos de alta umidade. Assim, a instabilidade não ácida do leite pode atuar como fator modificador da microestrutura do gel, influenciando rendimento, retenção de água e propriedades mecânicas, sem necessariamente comprometer a viabilidade tecnológica do produto.

2.4 CONCLUSÃO

Verificou-se alta estabilidade do leite das raças Holandesa e Jersey em todas as estações do ano, demonstrando alta qualidade do leite dos rebanhos.

No que se refere ao efeito da utilização desse leite na produção do queijo tipo Cottage, verificou-se que a instabilidade proteica não inviabilizou o processamento. O uso de leite instável resultou em maior rendimento industrial aparente, associado à maior retenção de umidade e menor sinérese da coalhada. Essas alterações refletiram-se na composição do produto, especialmente no teor de umidade e nas características da matriz proteica, promovendo modificações no perfil físico-químico quando comparado ao queijo elaborado com leite estável.

Apesar das diferenças observadas, o queijo produzido com leite instável apresentou características compatíveis com produtos frescos de alta umidade, demonstrando viabilidade tecnológica para sua utilização.

Embora a instabilidade proteica altere alguns parâmetros físico-químicos e tecnológicos do queijo Cottage, ela não compromete sua produção, ampliando as possibilidades de aproveitamento industrial desse leite.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, F. E. M. Avaliação da estabilidade do leite na produção de queijo muçarela e seus efeitos nas características físico-químicas e funcionais. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia) – **Universidade Estadual de Ponta Grossa**, Ponta Grossa, 2023.
- AQUARONE, E. et al. **Biotecnologia industrial**. São Paulo: Blucher, 2001.
- ARAÚJO, E. A. et al. Cottage cheese: fundamentals and technology. In: TAMIME, A. Y. **Handbook of animal-based fermented food and beverage technology**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2016.
- BARGO, F. et al. Seasonal effects on milk composition and yield of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 7, p. 6895–6906, 2021.
- BONDAN, C. et al. Milk composition of Holstein cows: a retrospective study. **Ciência Rural**, v. 48, n. 12, e20180123, 2018.
- BORGE, O. M. A. Elaboração e caracterização de queijo tipo cottage adicionado de óleo de pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm). 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.
- BOURNE, M. C. Texture profile analysis. **Food Technology**, v. 32, n. 7, p. 62–66, 1978.
- BRASIL, R. B.; NICOLAU, E. S.; SILVA, M. A. P. Leite instável não ácido e fatores que afetam a estabilidade do leite. **Ciência Animal**, v. 25, n. 4, p. 15–26, 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 nov. 2018.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 77, de 26 de novembro de 2018. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 nov. 2018.
- BUSANELLO, M. et al. Relationship between seasonal variation in the composition of bulk tank milk and payment based on milk quality. **Slovak Journal of Animal Science**, v. 53, n. 1, p. 28–37, 2020.
- CHANG, H. et al. Comparison of ruminal microbiota, metabolomics, and milk performance between Montbéliarde × Holstein and Holstein cattle. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 10, p. 1178093, 2023.
- CÍTEK, J. et al. LALBA polymorphisms and other factors affecting raw milk protein stability. **Journal of Dairy Science**, v. 106, n. 8, p. 2345–2356, 2023.
- CLARKSON, J. W. et al. Assessment of elemental deficiency of crossbred dairy cows in smallholder farms in Sri Lanka. **Journal of Dairy Science**, v. 107, n. 6, p. 1234–1245, 2024.
- COSTA, C. H. F. et al. Colloidal stability of milk: reinterpretation of alcohol test results by digital microscopy. **Journal of Dairy Research**, v. 89, n. 1, p. 1–4, 2022.

COSTA, F. F. et al. Fatores associados à estabilidade do leite e implicações na indústria de laticínios. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, n. 5, p. 1689–1698, 2019.

COSTA, T. S. et al. Factors affecting alcohol stability of milk: a review. **Journal of Dairy Research**, v. 89, n. 2, p. 121–130, 2022.

DEMMENT, M. W.; VAN SOEST, P. J. A nutritional explanation for body-size patterns of ruminant and nonruminant herbivores. **The American Naturalist**, v. 125, n. 5, p. 641–672, 1985.

DIPRONG, T. et al. Comparison of the thermal behavior and chemical composition of animal and plant-based milk types. **Foods**, v. 14, n. 3, p. 389, 2025.

EMBRAPA. **Leite instável não ácido (LINA): ocorrência e impactos na qualidade do leite**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2023.

FAGNANI, R. et al. Milk acidity and pH relationships in unstable and stable milk samples. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 1234–1242, 2016.

FISCHER, V. et al. Leite instável não ácido: um problema solucionável? **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 3, p. 838–849, 2012.

FITZTUM, A. C. Estudo comparativo entre denominações com base nas principais características de queijos semiduros tradicionais brasileiros. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2022.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.

FONSECA, R. R.; SANTOS, A. L. Estabilidade do leite frente à prova do álcool. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 5, p. 987–994, 2000.

FOX, P. F. et al. **Fundamentals of cheese science**. 2. ed. New York: Springer, 2017.

FURTADO, M. M. **Tecnologia de queijos**. 3. ed. São Paulo: Fonte Comunicações, 2019.

GUINEE, T. P. Role of protein in cheese and cheese products. **International Journal of Dairy Technology**, v. 60, p. 70–78, 2007.

HECK, J. M. L. et al. Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 10, p. 4745–4755, 2009.

LEMOES, M. V. A. et al. Efeito do estresse térmico sobre a produção e composição do leite de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 49, e20190265, 2020.

MARTINS, C. M. M. R. et al. Variação sazonal na qualidade do leite cru em diferentes sistemas de produção. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 5, p. 1199–1207, 2012.

McSWEENEY, P. L. H.; FOX, P. F. **Advanced dairy chemistry**. New York: Springer, 2013.

NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. Washington: National Academy Press, 2001.

PARK, Y. W. **Handbook of milk of non-bovine mammals**. Boston: Blackwell Publishing, 2007.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Manole, 2011.

TUNICK, M. H. Rheology of dairy foods that gel, stretch, and fracture. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1892–1898, 2000.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. **Dairy science and technology**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2006.

WEST, J. W. Effects of heat stress on production in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 6, p. 2131–2144, 2003.

ZANELA, M. B. et al. Ocorrência de leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 6, p. 1009–1013, 2009.