

DETERMINAÇÃO DA LACTOSE DO LEITE

(*) Nelcindo Nascimento Terra

1. INTRODUÇÃO

A lactose é o dissacarídeo responsável pelo sabor levemente adocicado do leite (5), sendo elaborada na glândula mamária dos mamíferos a partir da glicose sanguínea.

Apesar de não ser o único glicídeo do leite é o de maior significado tato sob o ponto de vista quantitativo (3,10) como nutritivo (8,9).

A determinação quantitativa da lactose é de grande importância tanto na detecção da adulteração do leite pela adição fraudulenta de água, como na caracterização de processos inflamatórios da glândula mamária (6).

WINTON & WINTON (13) ao mencionarem que os métodos aprovados para a quantificação da lactose se baseiam na redução do cobre ou na polarização, salientam serem os primeiros, os mais exatos.

Em ambos os casos o leite, inicialmente, sofre uma defecação quando as proteínas, gorduras e alguns sais são precipitados e separados por filtração. Essa fase inicial é muito importante para a precisão da determinação. GRIMBLEBY (7) em minucioso estudo demonstra a importância do preparo do soro livre de proteínas na quantificação da lactose.

Até o presente momento temos utilizado o método volumétrico para a determinação da lactose. Utilização esta recomendada pelo Instituto Adolfo Lutz (12) e pela inexistência de método oficial em nosso país. (4).

Ao executarmos tal método defrontamo-nos com dois problemas que se refletem diretamente nos resultados finais das análises. Sentimos dificuldades em verificar o exato ponto final da titulação bem como, não poucas vezes, ocorrem vazamentos na bureta em face da ação intensa do calor sobre o lubrificante da torneira da mesma.

Em face do acima mencionado, nos propomos no presente trabalho a determinar a lactose láctea utilizando os métodos colorimétrico (Somogyi-Nelson) e gravimétrico (Soxhlet) comparando logo a seguir os resultados obtidos, com os do método volumétrico, tradicionalmente utilizando em nosso meio.

(*) Professor Adjunto do Departamento de Tecnologia Alimentar da UFSM.

Chefe do Departamento Prof. Titular Cyro Melo Schmitz.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATERIAL

Trabalhamos com trinta amostras de leite pasteurizado obtidas no comércio da cidade de Santa Maria. As determinações foram feitas utilizando-se três alíquotas da amostra para cada método, sendo que os resultados representam os valores médios obtidos.

2.2. MÉTODOS

Os métodos utilizados foram:

2.2.1. Volumétrico (12)

2.2.1.1. Procedimento: transfira com o auxílio de uma pipeta, 25 ml da amostra para um balão volumétrico de 500 ml. Adicione 400 ml de água, 8,8 ml de uma solução de hidróxido de sódio 0,5 N e 10 ml de uma solução de sulfato de cobre 6,925%. Agite. Complete o volume com água. Agite. Deixe sedimentar. Filtre em papel de filtro seco. Receba o filtrado em um frasco Erlenmeyer seco. Transfira o filtrado para uma bureta de 25 ml. Transfira para um balão de titulação, com o auxílio de pipetas, 10 ml de cada uma das soluções de Fehling. Adicione às gotas a solução do balão em ebulição e agitando sempre, até que esta passe de azul a incolor.

2.2.1.2. Cálculo:

$$\frac{a \times A \times 100}{V \times L} = \text{glicideos redutores, em lactose por cento p/v}$$

onde:

L — n.º de ml da amostra.

A — n.º de ml da solução da amostra.

V — n.º de ml da solução da amostra, gasto na titulação.

a — n.º de g de lactose que corresponde a 10 ml das soluções de Fehling.

2.2.2. Colorimétrico (Somogyi-Nelson) (1)

2.2.2.1. Procedimento: transfira com auxílio de uma pipeta, 0,5 ml da amostra, para um balão volumétrico de 100 ml. Adicione 1 ml de tungstato de sódio 10%, agite. Logo a seguir adicione 1 ml de sulfato de cobre 7% e agite novamente. Complete o volume com água destilada. Deixe em repouso por 30 minutos e logo a seguir filtre. Coloque 1 ml do filtrado em tubo de Folin e adicione 1 ml da solução cupro-alcalina

de Somogyi. Aqueça em banho de água fervente, exatamente 10 minutos. Esfrie rapidamente e junte ao tubo de Folin 1 ml do reativo de Nelson. Misture bem e aqueça em banho de água fervente durante 5 minutos. Resfrie e complete o volume a 25 ml com água destilada. Misture por inversão repetida do tubo de Folin e aguarde 10 minutos para proceder a leitura no espectrofotômetro a 540 mμ, ajustando o "BRANCO" a 100% de transmissão.

Observação: Trabalhe paralelamente com um "BRANCO" e um "TESTEMUNHA" o qual corresponde a 5 g de lactose %.

2.2.2.2. Cálculo:

$$\frac{D. O. Amostra}{D. O. Testemunha} \times 5 = \text{g de lactose \%}$$

2.2.3. Gravimétrico (Soxhlet) (2, 11)

2.2.3.1. Procedimento: transfira com o auxílio de uma pipeta um volume exatamente medido da amostra que corresponda a 25 g, para um balão volumétrico de 500 ml. Adicione 400 ml de água, 8,8 ml de uma solução de hidróxido de sódio 0,5 N e 10 ml da solução de Soxhlet de sulfato de cobre (+). Agite. Deixe sedimentar. Filtre em papel de filtro seco. Coloque 25 ml do filtrado em um bquer que contenha 25 ml de cada uma das soluções de Fehling-Soxhlet (+). Aqueça até a ebulição e mantenha esta por 6 minutos exatamente. Recolha o precipitado de óxido cuproso em cadinho de Gooch (++) , previamente lavado com álcool etílico, éter etílico, dessecado 60 minutos a 100°C e pesado. A seguir lave o precepitado com água aquecida, álcool etílico, éter etílico e desseque novamente por 60 minutos a 100°C. Transcorrido esse tempo, resfrie em dessecador e pese.

2.2.3.2. Cálculo: encontre o pêso da lactose que corresponde ao pêso de óxido cuproso empregando a Tabela de Soxhlet-Wein e calcule a percentagem.

3. RESULTADOS

Os resultados médios obtidos encontram-se na Tabela I.

(+) — Solução de Fehling-Soxhlet
Solução 1: dissolver em água destilada 34,64 g de sulfato de cobre e diluir até 500 ml.
Solução 2: dissolver em água destilada 173 g de tartarato duplo de sódio e potássio e 50 g de hidróxido de sódio. Diluir até 500 ml.

(++) — Com superfície filtrante de vidro sinterizado, n.º 3.

TABELA I
RESULTADOS MÉDIOS OBTIDOS COM OS DIFERENTES
MÉTODOS (g%)

N.º das Amostras	Volumétrico	Colorimétrico (Somogyi-Nelson)	Gravimétrico (Soxhlet)
01	4,67	4,60	4,63
02	4,41	4,35	4,38
03	4,66	4,60	4,62
04	4,28	4,25	4,25
05	4,74	4,70	4,72
06	3,84	3,80	3,80
07	4,66	4,62	4,63
08	4,56	4,50	4,52
09	4,62	4,60	4,57
10	4,72	4,72	4,70
11	4,71	4,68	4,70
12	4,69	4,61	4,69
13	4,67	4,65	4,65
14	4,66	4,60	4,65
15	4,42	4,38	4,41
16	4,43	4,42	4,43
17	4,74	4,72	4,70
18	4,70	4,63	4,68
19	4,72	4,68	4,70
20	4,65	4,65	4,61
21	4,67	4,60	4,63
22	4,42	4,40	4,38
23	4,41	4,37	4,39
24	4,30	4,26	4,27
25	4,32	4,30	4,28
26	4,34	4,30	4,33
27	4,65	4,60	4,64
28	4,73	4,72	4,70
29	4,72	4,70	4,74
30	4,68	4,61	4,67

TABELA II
TESTE DE REPRODUTIBILIDADE
QUANTIDADE DE LACTOSE DE DEZ ENSAIOS DE UMA
MESMA AMOSTRA DE LEITE (g%)

Ensaio	Método Volumétrico	Método Colorimétrico	Método Gravimétrico
01	4,25	4,18	4,21
02	4,30	4,20	4,25
03	4,32	4,20	4,24
04	4,30	4,20	4,21
05	4,32	4,22	4,21
06	4,25	4,18	4,25
07	4,25	4,20	4,23
08	4,27	4,20	4,23
09	4,30	4,22	4,26
10	4,30	4,19	4,26

TABELA III
TESTE DE RECUPERAÇÃO
DETERMINAÇÃO DE LACTOSE ADICIONADA

Métodos	Lactose adicionada g%	Lactose determinada g%	Recuperação %
Volumétrico	0	4,25	—
	2	6,40	102,4
	5	9,40	101,6
	10	14,38	100,9
Colorimétrico	0	4,18	—
	2	6,13	99,1
	5	9,13	99,4
	10	14,12	99,5
Gravimétrico	0	4,21	—
	2	6,18	99,5
	5	9,17	99,5
	10	14,16	99,6

TABELA IV
ANÁLISE DA VARIÂNCIA

Causas da Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Desvio padrão	v
Entre Grupos	2	0,0232	0,0116	0,1077	0,52++
Resíduo	87	3,6479	0,0419	0,2047	
Total	89	3,6711			

++ não significativo

4. DISCUSSÃO DE RESULTADOS

Inicialmente, verificamos a viabilidade dos métodos ensaiados aplicando os Testes de Reprodutibilidade e Recuperação.

No Teste de Reprodutibilidade (TABELA II) procedemos dez ensaios com uma mesma amostra de leite. O método volumétrico foi aquele que apresentou a maior diferença entre os resultados extremos ou seja, de 0,07, enquanto que nos métodos colorimétrico e gravimétrico foi de 0,04 e 0,05, respectivamente. Tais cifras denotam excelente reprodutibilidade para ambos métodos.

A recuperação (TABELA III) foi estudada determinando-se a lactose com o auxílio dos métodos em estudo, inicialmente na amostra e logo a seguir na amostra adicionada de quantidades conhecidas de lactose.

Para o método volumétrico a recuperação variou de 100,9% a 102,4% ultrapassando levemente ao 100%, lembrando, provavelmente, a não verificação do exato ponto final da titulação o que vem comprovar mais uma vez a procedência de nossa apreensão por ocasião da Introdução deste Trabalho.

O método volumétrico apresentou uma recuperação de 99,1% a 99,5%, semelhante com a encontrada por AINCIBURU (1) que foi de 98,7%, enquanto que o gravimétrico acusou uma recuperação muito semelhante que variou de 99,5% a 99,6%.

Constatada a ótima reprodutividade e recuperação dos métodos em estudo passamos a comparar os métodos colorimétrico com o volumétrico, tradicionalmente empregado em nossos laboratórios. Pela análise da variância (TABELA IV) obtemos um valor para v menor do que um (0,52) superior aos fornecidos pela Tabela de limites bilaterais (ao nível de 5% = 0,16 e ao nível de 1% = 0,071) o que caracteriza não ser significativa a diferença dos aludidos métodos para com o volumétrico. Assim sendo poderemos utilizar indiferentemente qualquer um dos três métodos sem prejuízo algum da exatidão dos resultados a serem obtidos. Observação que gostaríamos de fazer é com relação ao método gravimétrico (Soxhlet) (2, 11) que recomenda que os cadinhos de Gooch sejam dessecados 30 minutos enquanto que somente obtivemos resultados exatos quando dessecados 60 minutos.

5. CONCLUSÕES:

- 1) — Que os métodos colorimétrico (Somogyi-Nelson) e gravimétrico (Soxhlet) em face da exatidão demonstrada, poderão substituir o volumétrico na determinação da lactose do leite.
- 2) — Que os métodos colorimétrico (Somogyi-Nelson) e gravimétrico (Soxhlet) facilitam a determinação da lactose visto dispensarem a verificação do ponto final de titulações e o auxílio de aquecimento.

6. RESUMO

O autor comparou os métodos colorimétricos (Somogyi-Nelson) e gravimétrico (Soxhlet) com o volumétrico visando encontrar métodos exatos que facilitem a determinação da lactose, dispensando titulações com auxílio de aquecimento.

Demonstrou também que os métodos colorimétrico (Somogyi-Nelson) e gravimétrico (Soxhlet) não apresentam diferenças estatisticamente significativa para com o volumétrico, podendo assim, substituí-lo na determinação da lactose do leite.

7. SUMMARY

The author compared the colorimetric (Somogyi-Nelson) and gravimetric (Soxhlet) methods with the volumetric aiming to find exact methods to help the determination of lactose, declining titulations with aid of heat.

He showed that the colorimetric (Somogyi-Nelson) and gravimetric (Soxhlet) methods don't present significative difference statically in comparison with the volumetric method, so, we can use them in the determination of lactose in milk.

8. BIBLIOGRAFIA (+)

- 1 — AINCIBURU, H. A. — Contribución a la determinación de lactose en leche. **La industria lechera**. Buenos Aires, dez 1969, p. 303-305 e 316.
- 2 — Association of Official Agricultural Chemists — **Methods of Analysis**. 10.º ed. Wisconsin, George Banta Company, Inc. 1965, p. 224.
- 3 — BEHMER, M. L. A. — **Lactícínios**. 3.º ed. São Paulo, Companhia Melhoramentos, s. d. p 17.
- 4 — BRASIL — Ministério da Agricultura. Serviço da inspeção de Produtos Agropecuários e Materiais Agrícolas. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária dos produtos de origem animal**. São Paulo. 1968.
- 5 — CECILIA, C. A. — **Enciclopedia de la leche**. Madrid, Espasa Calpe S. A., 1965, p. 360.
- 6 — GODED y MUR — **La leche y sus adulteraciones**. 2.º ed. Madrid, Sociedad Anonima Espanõla de Traductores y Autores, 1946 p. 101.
- 7 — GRIMBLEBY, F. H. — The determination of lactose in milk. **J. Dairy Research** 23: 229-237, 1956.

(+) De acõrdo com os normas preconizadas pela A.B.N.T. 1964.

- 8 — HODGSON, R. E. e REED, O. E. — **Manual de lactícínios para a América Tropical**. Washington, D. C. United States Department of Agricultura, 1961, p. 253.
- 9 — JUDKINS, H. F. e KEENER, H. H. — **La leche su produccion y processos industriales**. Trad. de Alfonso V. Walls. México, Compania Editorial Continental, 1962 p. 50.
- 10 — MONTES, A. L. — **Bromatologia**. Buenos Aires, Editorial Universitária de Buenos Aires, 1966 p. 50.
- 11 — ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD — **Normas para el examen de los productos lacteos; métodos microbiológicos y quimicos**, 11.º ed. Washington, D. C. 1960, p. 449-450 (Publicaciones científicas, n.º 84).
- 12 — SÃO PAULO — Instituto Adolfo Lutz. **Normas Analíticas**. São Paulo s. d. v. 1, p. 138.
- 13 — WINTON, A. L. e WINTON K. B. — **Análisis de Alimentos**. Trad. de Francisco J. Vallejo Barcelona, Editorial Hispano Americana, S. A. 1958 p. 910.

AGRADECIMENTOS

Nossos melhores agradecimentos ao Prof. Tit. Dr. Dillon Lima do Amaral que colaborou no tratamento estatístico deste trabalho.