

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE LACTOSE EM LEITES ESPECIAIS

LACTOSE CONTENT DETERMINATION IN SPECIAL MILKS

Sérgio Marques Costa^{1*}, Erika da Silva Andrade², Thalia Caroline Silva da Costa³, Talias Cristina Nogueira dos Santos⁴, Lavínia Quélrili Cunha Soares⁵, Máira Rodrigues Uliana^{6**}

^{1,2,3,4,5,6} Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, Programa de pós-graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional. Campus II, Bloco B2, Rodovia Raposo Tavares, km 572, Bairro do Limoeiro, 19067-175, Presidente Prudente-SP, Brasil.

*marxcosta@gmail.com

**maira@unoeste.br

Resumo

A intolerância à lactose pode ser descrita como uma afecção da mucosa intestinal que a incapacita a digerir a lactose devido à deficiência de uma enzima denominada lactase, que é responsável pela hidrólise da lactose em glicose e galactose. Este trabalho teve como objetivo analisar leites especiais rotulados como “zero lactose” e compara-lo com as normativas estipuladas na legislação vigente. O método utilizado foi a Determinação de glicídios redutores, que se baseia na reação de oxidação da lactose. Os leites analisados foram nomeados de A, B, C, D, E, F e os teores médios de lactose encontrados foram 3,17%, 3,01%, 2,98%, 2,99%, 3,13% e 2,98% respectivamente. Foi possível concluir que as amostras dos leites analisados apresentam resultados positivos para a lactose, divergindo das indicações dos rótulos, demonstrando falha na inspeção e no controle de qualidade do leite “Zero Lactose” comercializado no município de Presidente Prudente.

Palavras-chave: Intolerância alimentar, Lactase, Glicídios redutores.

Abstract

Lactose intolerance can be described as a condition of the intestinal mucosa that makes it unable to digest lactose due to the deficiency of an enzyme called lactase, which is responsible for lactose hydrolysis in glucose and galactose. This study aimed to analyze special milks labeled as “zero lactose” and compare it with the regulations stipulated in current legislation. The method used was the determination of reducing glycid, which is based on the lactose oxidation reaction. The analyzed milks were named A, B, C, D, E, F and the average lactose contents were 3.17%, 3.01%, 2.98%, 2.99%, 3.13% and 2.98% respectively. It was possible to conclude that the milk samples analyzed presented

positive results for lactose, diverging from the label indications, demonstrating failure in the inspection and quality control of the “Zero Lactose” milk marketed in Presidente Prudente city.

Keywords: Food intolerance, Lactase, Reducing glycerides.

Introdução

Entende-se por leite, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de origem de outros animais deve ser especificado segundo sua origem.¹ O leite é um líquido branco, opaco, duas vezes mais viscoso que a água, de sabor ligeiramente adocicado e odor suave, é um produto de alto grau de complexidade, sendo estimado que o leite possua em torno de cem mil constituintes distintos, embora a maioria não tenha ainda sido identificada. Seus principais componentes são água, sólidos totais, gorduras, proteínas, lactose e minerais. Também fazem parte da composição do leite (em menores teores) vitaminas, bactérias, leucócitos e células mamárias secretoras.²

Os leites atualmente podem ser agrupados em diferentes tipos, por exemplo, o leite cru refrigerado é o tipo de leite que vem diretamente da ordenha da vaca, refrigerado e mantido nas temperaturas de conservação constantes de 7°C na propriedade rural/Tanque comunitário e 10°C no estabelecimento processador. Apresenta matéria gorda com teor original de no mínimo 3,0g (g.100 g⁻¹) e proteínas de no mínimo de 2,9g (g.100 g⁻¹).¹

Leite pasteurizado tipo A, que é caracterizado quanto ao teor de gordura, sendo classificado como: integral, mínimo de 3,0 g (g.100 g⁻¹), semidesnatado 0,6 a 2,9 g (g.100 g⁻¹) ou desnatado máximo de 0,5 g (g.100 g⁻¹), produzido, beneficiado e envasado em estabelecimento denominado “Granja Leiteira”, esse tipo de leite é submetido a tratamento térmico na faixa de temperatura de 72 a 75°C durante 15 a 20 segundos, seguindo-se de resfriamento imediato em temperatura igual ou inferior a 4°C e envase em circuito fechado no menor prazo possível, sob condições que minimizem contaminações.^{1,3}

Entende-se por leite UHT (Ultra High Temperature) ou “leite longa vida” o leite homogeneizado que foi submetido, durante 2 a 4 segundos, à temperaturas variando entre 130 e 150°C, mediante um processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32°C e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas. Eles podem ser classificados ainda como: leite UHT integral, leite UHT semidesnatado ou parcialmente desnatado e leite UHT desnatado.⁴

Por fim, são classificados como “Leite Sem Lactose” aqueles que passam por processos químicos para a quebra da lactose, este tipo de leite é destinado a pessoas que são intolerantes à lactose, açúcar predominante do leite^{5,6}. Tais leites são normalmente tratados com lactases comerciais,

sendo chamados “leites zero lactose” ou “leites especiais” que são comercializados nos mercados nacionais como longa-vida integrais².

Na produção deste tipo de leite a hidrólise enzimática da lactose pode ser feita por meio de dois métodos principais, o método químico e o enzimático. O método químico não é utilizado na indústria de alimentos, pois depende de altas temperaturas e utilização de ácidos muito fortes. No método enzimático a lactose é catalisada pela enzima lactase (β -galactosidase), que pode ser obtida industrialmente através da levedura *Tórula cremoris*.⁷

O início do processo industrial do leite ocorre na recepção, aonde o leite chega a granel em caminhões isotérmicos em temperatura de até 7°C. O leite deve ser filtrado com objetivo de eliminar sujeiras menores, diminuindo-o foco de contaminação inicial. No processo de padronização, o leite deverá ser apresentar 3,2% de gordura. Na pasteurização, o leite deve passar em trocador de calor em placas a 72°C por 15 segundos. O leite poderá ser refrigerado e armazenado ou seguir para a operação de homogeneização necessária para compensar os efeitos de desestabilização das proteínas e gordura do leite, provocada pelo processo de injeção de vapor e resfriamento por evaporação. Após este processo é adicionado citrato de sódio, cuja função é evitar a sedimentação do leite.⁸

No processo enzimático de obtenção do leite zero lactose, o leite cru passa pelo processo de esterilização (UHT), é resfriado e então, adiciona-se a lactase, posteriormente o leite é envasado. A hidrólise da lactose ocorre no interior da embalagem. Resumidamente o processo consiste em deixar o leite em repouso cerca de três a quatro horas, onde a lactase quebra a lactose, formando dois subprodutos: glicose e galactose.²

Ao paladar, a glicose pode parecer mais doce que a lactose, alterando assim o sabor final do leite, mas esse não tem adição de açúcar (sacarose). O leite ainda apresenta o mesmo valor calórico, fornecimento de nutrientes, aminoácidos e vitaminas essenciais. No entanto, o leite submetido ao processo de hidrólise enzimática da lactose, pode ainda apresentar até 0,1% de lactose. Desta forma, pode se afirmar que a lactose não é retirada do leite, e sim quebrada em açúcares, realizando o processo que o organismo das pessoas com intolerância à esta proteína não é capaz.^{6, 7}

A lactose (Galactose β -1,4 glucose) é sendo o constituinte sólido predominante e menos variável da composição dos leites. É um dissacarídeo formado pelos monossacarídeos glicose e galactose que são ligados através do grupo aldeído (C-1) da galactose ao carbono C-4 da glicose, formando a ligação glicosídica (1,4) e existindo em duas formas isoméricas, a α -lactose e β -lactose, que diferem na posição da hidroxila e do hidrogênio do grupo redutor da lactose, esta diferença estrutural influência a solubilidade das duas formas^{7,9,10} (Figura 1).

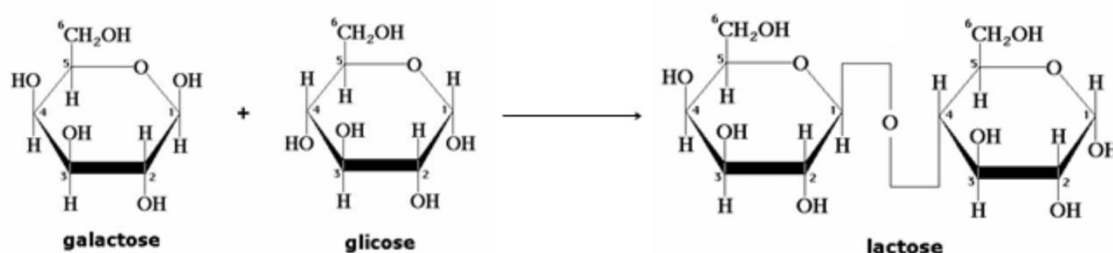


Figura 1 – Estrutura da Lactose.

Fonte: Autores.

A má digestão da lactose ocorre devido a um declínio na atividade da enzima β -galactosidase mais conhecida como lactase. A lactose no cólon será fermentada em ácido láctico, resultando na produção de gases como metano, dióxido de carbono e hidrogênio e ácidos graxos de cadeia curta como acético, butírico e propiônico, responsáveis pela redução do pH do meio. Para que a assimilação da lactose ocorra pelo organismo é necessário que a mesma seja hidrolisada em galactose e glicose no intestino delgado, pela ação da enzima lactase^{7, 11, 12} (Figura 2).

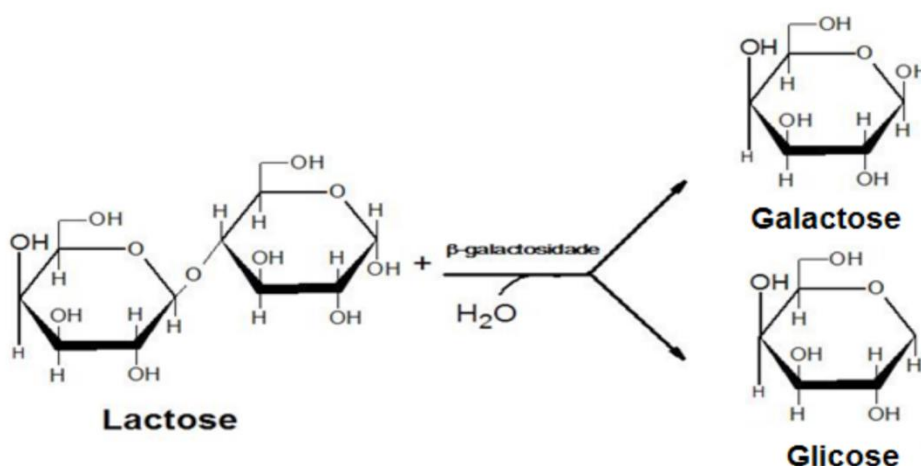


Figura 2 - Hidrólise enzimática da lactose catalisada pela lactase.

Fonte: Autores.

A lactase produzida por fungos filamentosos (*Aspergillus Níger* e *Aspergillus oryzae*) possui pH ótimo na faixa acida de 2,5 a 4,5, enquanto a produzida por leveduras (*Kluyveromyces lactis*, *Candidapseudo tropicalis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Kluyveromyces marxianus* e *Saccharomyces* sp.) possui pH ótimo próximo à neutralidade (6,5 e 7,5). Essa característica é importante para os processos industriais, pois a escolha da fonte da lactase deve estar de acordo com as necessidades impostas pela natureza do substrato e do produto.⁸

A intolerância à lactose pode ser classificada em três grupos, que representam o modo como se manifesta que podem ser classificados como: intolerância a lactose congênita, primária e secundária, assim, a deficiência congênita é aquela que se dá pela ausência ou baixa produção da

lactase, sendo herdada e extremamente rara, é caracterizada pela ausência de lactase no nascimento e é uma condição permanente que se manifesta logo após o nascimento e o principal sintoma é a diarreia osmótica, que cessa com a retirada da lactose da dieta.^{13, 14, 15}

A deficiência primária, também conhecida como hipolactasia adulta, é a mais frequentemente observada devido ao declínio da atividade enzimática na idade adulta. Em geral, esta queda na produção da lactase varia de acordo com alguns fatores como: quantidade de lactose consumida, idade do indivíduo, genética e taxa de digestão, etc. Somado a estes, existem fatores biológicos, psicológicos e culturais que também podem influenciar no nível de intolerância a alimentos contendo lactose.^{13,15}

Já a deficiência secundária, ou deficiência adquirida, que é resultante de lesões causadas na mucosa do intestino como, por exemplo, o uso de radiação e de medicação em tratamento de câncer, doenças como gastroenterites, doença de Crohn, colite ulcerativa, dentre outras que também podem lesionar a mucosa intestinal. Uma vez sanadas as lesões, geralmente, a atividade da lactase é restabelecida.¹⁵

A exclusão do leite da dieta de pacientes portadores de má digestão da lactose pode acarretar prejuízos nutricionais e consequentes danos à saúde. Como forma de tratamento para todos os tipos de intolerância, recomenda-se evitar o consumo de produtos ricos em lactose, ingerir a enzima lactase com produtos lácteos ou consumir produtos onde a lactose tenha sido removida pela fermentação que ocorre na fabricação de coalhadas, iogurtes e queijos.⁸

No Brasil não existe uma legislação específica para produtos lácteos com lactose hidrolisada, porém a produção destes atualmente é regulamentada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).⁶ São duas resoluções da ANVISA: a primeira é a RDC 135/2017 que inclui os alimentos para dietas com restrição de lactose no regulamento de alimentos para fins especiais. A segunda é a resolução RDC 136/2017 que define como as informações de lactose devem ser colocadas no rótulo, independentemente do tipo de alimento.

Pela regra, os fabricantes são obrigados a informar a presença de lactose nos alimentos. Isso vale para alimentos com mais de 100 miligramas (mg) de lactose para cada 100 gramas ou mililitros do produto. Ou seja, qualquer alimento que contenha lactose em quantidade acima de 0,1% deverá trazer a expressão “Contém lactose” em seu rótulo. Esse limite está baseado em referências técnicas e na experiência de países que adotam a rotulagem de lactose há mais tempo, como Alemanha e Hungria. O limite de 100 miligramas é entendido como seguro para as pessoas com intolerância à lactose.⁶

Aproximadamente 70% da população mundial têm algum grau de intolerância à lactose, por isso grandes marcas vêm investindo em produtos sem lactose. Para o mercado brasileiro de produtos zero lactose estima-se um crescimento anual de 15 a 20% até o ano de 2020, de acordo com

pesquisa realizada ¹⁶. O aumento da procura por alimentos que promovam maior bem-estar, também focado na disponibilização de produtos para quem sofre de algum tipo de intolerância, o aquecimento do mercado se torna cada vez maior e as vendas desse segmento subiram de 22 milhões para 359 milhões de dólares em um curto período de tempo.⁸

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi investigar a presença de lactose em leites UHT especiais (Zero Lactose), comercializados no município de Presidente Prudente, SP.

Material e métodos

Seção de reagentes

Solução de Sulfato de zinco 30%; Solução de Ferrocianeto de potássio 15%; Solução de Fehling A e B.

Amostras e delineamento

Foram avaliados 6 (seis) amostras de leite UHT especiais que não contém lactose, identificadas por A, B, C, D, E, F., comercializadas comumente nos principais supermercados localizados no município de Presidente Prudente/SP, é importante ressaltar que as marcas avaliadas são comercializadas em todo o estado de São Paulo, assim como são também comercializadas em todo o território nacional. O delineamento experimental foi definido em 6 (seis) tratamentos, com 4 (quatro) repetições, onde cada repetição foi representada por uma embalagem de mesmo lote comercial.

Análise do teor de lactose

Existem muitos métodos quantitativos disponíveis para a determinação de lactose, estes métodos precisam ser eficientes e possuir baixos limites de detecção, uma vez que estamos lidando com determinações de baixas concentrações deste carboidrato. Poderosas ferramentas analíticas (por exemplo, cromatografia líquida, espectrometria de massa e espectroscopia Raman) raramente estão disponíveis na maioria dos laboratórios, necessitando, assim, do desenvolvimento de alternativas mais baratas.¹⁷

Neste trabalho utilizamos o método de Determinação de Glicídios Redutores em Lactose, que se fundamenta na reação de oxidação de acordo com Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.^{18, 19}

Para determinação do teor de lactose presente no leite, nós pipetamos 10 mL da amostra em um balão volumétrico de 100 mL, adicionamos 50 mL de água destilada, 2 mL da solução de

sulfato de zinco a 30% e 2 mL da solução de ferrocianeto de potássio a 15%, misturando bem após cada adição. Após 5 minutos, completamos o volume com água destilada e as amostras foram agitadas e então filtradas em papel filtro. O filtrado, foi transferido para um frasco Erlenmeyer de 300 mL. Em um balão de fundo chato de 300 mL, transferimos 10 mL de cada uma das soluções de Fehling e adicionamos 40 mL de água destilada, aquecendo até a ebulição em chapa aquecedora. O filtrado foi transferido para uma bureta de 25 mL para titulação da solução do balão em ebulição, agitando sempre, utilizando garra de madeira, até que esta solução mudou de coloração azul para incolor (no fundo do balão ficou um resíduo vermelho-tijolo). Na sequência, aplicamos a formula para obter o resultado.

$$\frac{Vx0,068x100}{Lxv} = \text{glicídios redutores em lactose}$$

Legenda:

0,068 = número de g de lactose que corresponde a 10 mL da solução de Fehling.

v = número de mL da solução da amostra, gasto na titulação.

L = número de mL da amostra.

V = número de mL da diluição da amostra (100 mL).

Resultados e discussão

Na tabela 1 estão apresentados os teores de lactose (%) obtidos a partir da análise de glicídios redutores em lactose nas amostras de leite UHT analisadas, as quais foram declaradas como “zero lactose” pelos fabricantes.

Tabela 1: Teores de lactose em diferentes marcas de Leites UHT “Zero Lactose”, expressos em porcentagem (%).

MARCAS	A	B	C	D	E	F
TEOR DE LACTOSE (%)	3,17	3,01	2,99	2,99	3,13	2,98
DESVIO PADRÃO	0,069	0,048	0,031	0,005	0,053	0,024
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (CV%)	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01

Fonte: Autores.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estipula que os rótulos de alimentos que contenham lactose e os que alteraram o seu teor original devem indicar a presença da substância ou o teor remanescente desse carboidrato, assim sendo, consumidores tem o direito de ser

informado sobre o teor de lactose no leite ou a todo e qualquer produto que tenha, em sua composição, lactose assegurando aos cidadãos dados claros e precisos sobre o que ele consome.

Nós encontramos teores de lactose acima da quantidade declarada nos rótulos em todos os leites analisados. Os teores detectados pelo método que utilizamos variaram em média entre 2,98 e 3,17%. O alto teor de lactose que detectamos descumpra as, Resoluções – RDC nº 135, de 8 de Fevereiro de 2017 e RDC nº 136, de 8 de Fevereiro de 2017 (ANVISA) que determinam que o leite para ser considerado com zero teor de lactose tem que estar nos padrões de igual ou menor que 100 (cem) miligramas por 100 (cem) gramas ou mililitros do alimento pronto para o consumo. A concentração de lactose no leite *in natura* é de aproximadamente 5% (4,7 a 5,2%), porém, diversos fornecedores de lactase industrial afirmam que se a hidrólise da lactose for realizada seguindo os processos indústrias recomendados o produto final deverá apresentar 0% desse carboidrato, o que neste trabalho se mostrou contraditório.

Nossos resultados são diferentes dos encontrados por Júnior e colaboradores²⁰ que determinaram teores de lactose em 14 amostras de leites rotulados como “baixo teor de lactose” via PLS-DA (Partial Least Squares Discriminant Analysis, Análise discriminante por mínimo quadrados parciais) e relataram que os leites testados estavam corretamente classificados em 100% dos casos. Ohlsson et al.²¹, que quantificaram carboidratos, inclusive lactose, via cromatografia de troca anionica (HPAEC - High performance anion-exchange chromatography with electro-chemical), também relataram que os leites testados estavam em conformidade com seus rótulos, uma vez que os níveis de lactose no leite sem lactose e nos produtos lácteos fermentados analisados estavam abaixo ou perto dos limites de detecção para todos os produtos.

Todavia, Oliveira²² encontrou resultados muito semelhantes quando analisou leites “zero lactose” através do método de Lane-Eynon para verificar se os teores estavam em conformidade com as leis vigentes (máximo de 0,1%) e encontrou teores médios iguais a 3,14%. Gille et al.²³ afirmam que a quantificação da lactose em produtos sem lactose requer método sensível e é frequentemente prejudicada por altos níveis de glicose e galactose que estão presentes após o tratamento com lactase. Eles apresentaram seu estudo com método enzimático que inclui uma etapa de depleção de glicose enzimática e permite a análise sensível de baixos níveis de lactose em um limite de detecção de 25 mg.kg⁻¹. Este método foi utilizado para medir os níveis de lactose em diferentes tipos de queijo e níveis residuais de lactose em uma série de bebidas lácteas sem lactose. Nos resultados encontrados pelos autores, as concentrações de lactose estavam abaixo do limite de detecção nos queijos curados e altamente variáveis em queijos frescos, porém, eles detectaram teores elevados de lactose em leite “sem lactose”.

Os resultados encontrados por estes autores e por nós são bastante preocupantes, uma vez que, o público alvo desde tipo de alimentos são pessoas que portam algum tipo de necessidade

alimentar. Nascimento et al.¹⁷ revisaram uma série de artigos onde os autores determinaram teores de lactose e outros compostos importantes na adulteração de produtos lácteos a fim de assegurar a segurança alimentar e evitar riscos para a saúde dos consumidores. O trabalho de revisão destes autores enfocou a avaliação crítica de abordagens analíticas para ensaio de adulteração de leite, as inovações que abrangem o pré-tratamento da amostra e melhoraram detecção e processamento de dados, incluindo ferramentas quimiométricas. E, embora este objetivo tenha sido alcançado para o ensaio de alguns adulterantes, tais como peróxido de hidrogénio, melamina, ureia e soro, os autores concluíram que são ainda necessários procedimentos analíticos mais simples e fiáveis para a determinação de outras espécies.

Como a intolerância à lactose é um fator significativo na escolha da dieta para muitos doentes, seu conteúdo nos alimentos deve ser monitorado para evitar transtornos e doenças. Isso leva à necessidade de desenvolver métodos simples, como polarimetria, gravimetria, infravermelho médio, pH diferencial e monitoramento enzimático, entre outros. O problema dos métodos de baixo custo é a demora do resultado, porque eles exigiam preparação extensa de amostra. A fim de quantificar os baixos níveis de lactose, métodos analíticos novos e mais precisos foram desenvolvidos, estes, geralmente, exigem equipamentos como HPLC ou troca aniônica de alto desempenho (HPAE-PAD)²⁴, como já foi dito, tais métodos são caros e não estão disponíveis em todos os laboratórios que realizam este tipo de análise.

Li et al.²⁵ determinaram o teor de lactose em leites por diferentes métodos, com o intuito de verificar a eficácia dos métodos e comparar os teores detectados por métodos sofisticados que utilizam equipamentos caros (via Espectroscopia Raman e via HPLC) e métodos mais baratos (método de Lane-Eynon), que embora demandem tempo pois exigem preparo mais detalhado das amostras, são métodos que não necessitam de reagentes e equipamentos caros. Os autores não encontram diferença nos teores detectados nos três métodos utilizados.

Conclusão

Diante dos resultados expostos, conclui-se que as amostra dos leites analisados apresentam resultados positivos e de alto nível para a lactose, divergindo das indicações dos rótulos “Zero Lactose”, que evidenciam uma preocupação na área da saúde e necessitando de uma maior atuação ao nível de fiscalização e melhoria no controle de qualidade.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à Unoeste pelo auxílio financeiro para realização desta pesquisa.

Referências

- [1] Brasil. Ministério de Estado, Interino, da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Regulamento técnico de identidade e qualidade do leite pasteurizado. Diário Oficial da União, Brasília.
- [2] Faedo, R, et al. "Obtenção de leite com baixo teor de lactose por processos de separação por membranas associados à hidrólise enzimática." Revista CIATEC-UFP 3 (2013): 44-54.
- [3] Bermer, M. L. A. Laticínio: leite, manteiga, queijo, caseína e instalações – produção, industrialização, análise. 3 ed. 1965. São Paulo. Melhoramento (1965) 294 p.
- [4] Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Aprovar os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. São Paulo, S.P, (1996).
- [5] Bermer, M. L. A. Tecnologia do leite: leite, queijo, manteiga, caseína, iogurte, sorvetes e instalações-produção, industrialização e análise. 15 ed. São Paulo. Nobel (1987) 320 p.
- [6] Anvisa intolerância à lactose Rotulagem de lactose em alimentos tem regra publicada. 2017.
- [7] Voet, D. Fundamentos de Bioquímica: A vida em Nível Molecular. 2. ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2008.
- [8] Pereira, M. C. S. et al. Lácteos com baixo teor de lactose: uma necessidade para portadores de má digestão da lactose e um nicho de mercado. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, v. 67, n. 389, p. 57-65 (2012).
- [9] Barbosa, C. R., & Andreazzi, M. A. Intolerância à lactose e suas consequências no metabolismo do cálcio. Saúde e Pesquisa (2011) 4(1).
- [10] de Almeida, K. N. et al. Hidrólise enzimática da lactose de permeado de soro. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes 70.2 (2015) 55-63.
- [11] Lopes, R. R. S. et al. Prevalência de intolerância à lactose em pré-escolares e escolares no município de Duque de Caxias. In: Ciência, tecnologia e sociedade: Responsabilidade social, 16., 2008, Duque de Caxias. 6º Amostra Acadêmica. Duque de Caxias: Unimep (2008) v. 6, p. 1 – 4
- [12] Ko, L. Estudo da hidrólise da lactose na obtenção de leite lactose hidrolisado microfiltrado e avaliação de parâmetros físico-químicos para determinação da sua vida útil **(2016)**.
- [13] Kocian, J. Lactose intolerance. International Journal of Biochemistry, v. 20, n. 1, p. 1-5 (1988).
- [14] Téó, C. R. P. A. Intolerância à lactose: uma breve revisão para o cuidado nutricional. Arquivos de Ciências da Saúde da Unipar 6.3 (2002).
- [15] Di Costanzo, M., and Canani, R. B. Lactose intolerance: common misunderstandings. Annals of Nutrition and Metabolism 73.4 (2018) 30-37.

- [16] Paiva, V. N. et al. Desafios tecnológicos na produção de produtos com baixo teor de lactose. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes 73.2 (2018) 91-101.
- [17] Nascimento, C. F., et al. Recent advances on determination of milk adulterants. Food chemistry 221 (2017): 1232-1244.
- [18] Instituto Adolfo Lutz Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 3. ed. São Paulo: IMESP (2008) p.206.
- [19] Brasil. Leis, Decretos, etc. Instrução Normativa nº 22, de 14/04/03, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Diário Oficial da União, 02/05/2003.
- [20] Júnior, P. H. R., et al. FT-Raman and chemometric tools for rapid determination of quality parameters in milk powder: Classification of samples for the presence of lactose and fraud detection by addition of maltodextrin. Food chemistry 196 (2016) 584-588.
- [21] Ohlsson, J. A., et al. Lactose, glucose and galactose content in milk, fermented milk and lactose-free milk products. International dairy journal 73 (2017) 151-154.
- [22] Oliveira, A. A. et al. Determinação do teor de lactose em produtos destinados a alimentação infantil e estudo dos parâmetros estabelecidos pela nova legislação da Anvisa RDC 136/2017.2018.
- [23] Gille, D. et al. Detection of lactose in products with low lactose content. International Dairy Journal 83 (2018): 17-19.
- [24] Gambelli, L. Milk and its sugar-lactose: a picture of evaluation methodologies. Beverages 3.3 (2017): 35.
- [25] Li, M. et al. Determination of lactose in milk by Raman spectroscopy. Analytical Letters 48.8 (2015): 1333-1340.