

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO LEITE E
DERIVADOS

Ana Letícia Borges Finamore

**Aplicabilidade dos principais métodos instrumentais para
análise de lactose em leite e derivados: uma breve revisão**

Juiz de Fora
2024

Ana Letícia Borges Finamore

**Aplicabilidade dos principais métodos instrumentais para
análise de lactose em leite e derivados: uma breve revisão**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em
Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados da
Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito
parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e
Tecnologia do Leite e Derivados.

Orientador: Prof. Dr. Marcone Augusto Leal de Oliveira

Juiz de Fora
2024

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Borges Finamore, Ana Letícia.

Aplicabilidade dos principais métodos instrumentais para análise de lactose em leite e derivados : uma breve revisão / Ana Letícia Borges Finamore. -- 2024.

71 p. : il.

Orientador: Marcone Augusto Leal de Oliveira

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, 2024.

1. Produtos lácteos. 2. Análise de Lactose. 3. Controle de qualidade. 4. Métodos analíticos. I. Leal de Oliveira, Marcone Augusto, orient. II. Título.

Ana Letícia Borges Finamore

Aplicabilidade dos principais métodos instrumentais para análise de lactose em leite e derivados: uma breve revisão

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados. Área de concentração: Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados.

Aprovada em 25 de março de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcene Augusto Leal de Oliveira - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Rodrigo Stephani

Universidade Federal de Juiz de Fora

Profa. Dra. Isis Rodrigues Toledo Renhe

EPAMIG/ILCT

Juiz de Fora, 06/03/2024.



Documento assinado eletronicamente por **Marcone Augusto Leal de Oliveira, Professor(a)**, em 26/03/2024, às 10:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Isis Rodrigues Toledo Renhe, Usuário Externo**, em 14/05/2024, às 10:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Stephani, Professor(a)**, em 14/05/2024, às 16:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1736227** e o código CRC **63041EED**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Neise e Frederico, e ao meu irmão Augusto, pelo apoio incondicional e incentivo ao longo da minha trajetória profissional e acadêmica. Agradeço também ao meu marido, Miguel, pela companhia e apoio diários, e por sempre acreditar em mim. Não posso esquecer de expressar minha gratidão aos nossos queridos companheiros felinos, Bilbo e Frodo, por trazerem alegria aos nossos dias.

À amiga Cecille, sou grata pelas palavras de apoio, pelos encontros e viagens que compartilhamos, tornando os momentos difíceis mais leves. Agradeço também às amigas Ana e Neima, pelo longo período de amizade e carinho. Meus sinceros agradecimentos se estendem aos amigos Vinicius, Ricardo e Vitor, assim como à Paula, pelas risadas e conversas que sempre me confortaram. Um agradecimento especial aos compadres Daniel e Lu, e aos primos e tios, pelo acolhimento em todos os nossos encontros.

À Paula Paranhos, minha gratidão por acreditar em mim e me apoiar até os últimos momentos da pós-graduação. À Juliana Gervason, agradeço pela imensa ajuda na minha escrita.

Aos colegas de mestrado Raquel e Gabriel, agradeço pelas conversas produtivas. À amiga de mestrado e colega de profissão, Natália, sou grata pelas conversas e apoio mútuo, especialmente nos momentos mais desafiadores, e à Larissa, pelo apoio durante a reta final do mestrado.

Às professoras Isis e Carolina, agradeço pelos ensinamentos valiosos, tanto profissionais quanto pessoais, e pela oportunidade de trabalhar ao lado de vocês. Aos amigos da área de laticínios: Sarah, pela amizade e apoio nas dificuldades diárias da pesquisa; Marina, tenho orgulho de ser sua colega de profissão e pesquisa; Dani, pelo auxílio; Tati, pelas conversas e bolos deliciosos. Agradeço também às amigas do curso técnico, Alaise, Uly e Gabby, pelo carinho demonstrado.

Ao Instituto de Laticínios Cândido Tostes, expresso minha gratidão por me acolher de braços abertos e por mostrar que sempre tive um lugar na área de alimentos, especialmente no segmento lácteo.

Por fim, agradeço ao meu orientador, Marcone, pela oportunidade na pesquisa acadêmica e pelos ensinamentos.

There is nothing like looking, if you want to find something. You certainly usually find something, if you look, but it is not always quite the something you were after.
(Tolkien, 1937).

RESUMO

O presente trabalho de revisão teve como objetivo apresentar os principais métodos instrumentais para detecção e quantificação da lactose em leite e derivados. Foram selecionados estudos que abordaram o uso de métodos cromatográficos, enzimáticos, espectroscópicos e eletroforéticos para a análise da lactose. Foram realizadas comparações das vantagens e limitações dos métodos em relação ao custo, implementação, treinamento de pessoal, preparo de amostras e geração de resíduos. Além disso, foram discutidos aspectos relacionados à qualidade analítica e à aplicação em diferentes produtos lácteos. A revisão teve como objetivo destacar a importância da escolha do método analítico de acordo com as necessidades das empresas e laboratórios. O conhecimento das diversas técnicas garante uma análise precisa e eficiente do teor de lactose, proporcionando garantia de qualidade, segurança e conformidade do produto frente à legislação e às expectativas dos consumidores. Para avançar nesse campo, são necessárias pesquisas futuras voltadas para o desenvolvimento de métodos específicos para diferentes matrizes lácteas, que possuam alto valor analítico e menor custo.

Palavras-chave: Análise de Lactose. Métodos de Detecção. Controle de qualidade. Espectroscopia por IV. Eletroforese Capilar. Métodos Cromatográficos. Métodos Enzimáticos.

ABSTRACT

This review aspired to present the main instrumental methods for detecting and quantifying lactose in milk and dairy products. Chromatographic, enzymatic, spectroscopic and electrophoretic methods for lactose analysis were selected for this study. The advantages and limitations of the methods were compared regarding cost, implementation, workforce training, sample preparation and waste generation. Aspects of analytical quality and application in different dairy products were also compared. The review intended to highlight the importance of choosing the analytical method according to the needs of companies and laboratories. Knowledge of analytical techniques guarantees an accurate and efficient analysis of the lactose content to attest to the product's quality, safety and compliance with legislation and consumers. Future research is necessary to develop specific analytical methods for different dairy matrices, high analytical value and lower costs.

Keywords: Lactose analysis. Detection methods. Quality Control. IR spectroscopy. Capillary electrophoresis. Chromatographic methods. Enzymatic methods.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Forma de ocorrência dos principais componentes do leite	20
Figura 2 - Principais propriedades da lactose	22
Figura 3 - Métodos oficiais de análise do teor de lactose em produtos lácteos	33
Figura 4 - Artigos selecionados para a revisão	36
Figura 5 - Métodos analíticos instrumentais selecionados para a revisão	37
Figura 6 - Figura esquemática do método de cromatografia líquida	39
Figura 7 - Figura esquemática do funcionamento de um equipamento de cromatografia iônica	43
Figura 8 - Figura esquemática de equipamento de cromatografia gasosa	45
Figura 9 - Figura esquemática do método de eletromigração	48
Figura 10 - Representação do método enzimático por espectrofotometria pela via da glicose e da galactose	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Padrões regulatórios para teores de lactose em diferentes países	27
Tabela 2 - Teores de lactose e informação no rótulo de acordo com a legislação brasileira atual	29
Tabela 3 - Comparativo entre métodos instrumentais para análise da lactose	55
Tabela 4 - Comparativo dos parâmetros analíticos entre métodos cromatográficos	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIQ	Associação Brasileira das Indústrias de Queijo
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association of Official Analytical Collaboration International</i>
ASB	Albumina do Soro Bovino
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CE	Capillary Electrophoresis
EC	Eletroforese Capilar
CIH	Cromatografia Líquida por Interação Hidrofílica
CLA	Ácido Linoleico Conjugado
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
Covid	<i>Corona Virus Disease</i>
CZE	<i>Capillary Zone Electrophoresis</i>
EZC	<i>Eletroforese de Zona Capilar</i>
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
<i>et al.</i>	<i>et alii/et aliae</i>
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
FID	<i>Flame Ion Detector</i>
FIR	<i>Far Infrared</i>
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>
g	grama
GC	<i>Gas Chromatography</i>
CG	Cromatografia a Gás
HILIC	<i>Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography</i>
HMF	Hidroximetilfurfural
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	<i>Ion Chromatography</i>
IDF	<i>International Dairy Federation</i>
IN	Instrução Normativa
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>

IV	Infravermelho
Kg	Quilograma
L	Litro
LOD	<i>Limit of Detection</i>
LOQ	<i>Limit of Quantification</i>
m/m	massa/massa
MAPA	Ministério da Agricultura e Pecuária
Mg	Miligrama
MIR	<i>Medium Infrared</i>
mL	Mililitro
MS	<i>Mass Spectrometry</i>
NAD	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
NADPH	Fosfato de Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina
NF	Nanofiltração
NIR	<i>Near Infrared</i>
PAD	<i>Pulsed Amperometric Detection</i>
pH	potencial Hidrogeniônico
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SMPRs®	<i>Standard Method Performance Requirements®</i>
spp.	<i>Species</i>
UF	Ultrafiltração
UHT	<i>Ultra High Temperature</i>
UNESP	Universidade Estadual de São Paulo
WHO	<i>World Health Organization</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
α	Alfa
β	Beta
®	Registrado
OH	Grupo hidroxila
H ⁺	próton
SiOH	Grupos silanóis
NaCl	Cloreto de sódio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	18
2.1	Objetivo geral	18
2.2	Objetivos específicos	18
3	REVISÃO DA LITERATURA	18
3.1	Leite	18
3.2	Lactose	22
3.3	Intolerância à lactose	25
3.4	Produtos reduzidos ou isentos em lactose	26
3.5	Aspectos regulatórios em relação ao teor de lactose em produtos lácteos	27
3.6	Relevância do desenvolvimento de métodos para análise do teor de lactose em produtos lácteos	30
3.7	Métodos para análise de lactose em produtos lácteos	32
4	MÉTODOS	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1	Principais métodos analíticos instrumentais para análise de lactose	37
5.1.1	Métodos cromatográficos	38
5.1.2	Métodos espectroscópicos	46
5.1.3	Métodos de eletromigração	48
5.1.4	Métodos enzimáticos	50
5.1.5	Sensores eletroquímicos	53
5.2	Comparativo dos métodos analíticos instrumentais selecionados para a revisão	54
6	CONCLUSÃO	60
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

1 INTRODUÇÃO

O leite é um alimento de origem animal amplamente reconhecido por seu valor nutricional e presença frequente na dieta humana. Desde o nascimento, é consumido por todos os mamíferos para fornecer os nutrientes essenciais necessários para o crescimento e desenvolvimento do neonato. É considerado um alimento completo do ponto de vista nutricional, apresentando uma variedade de componentes benéficos para a saúde como proteínas, gorduras, vitaminas, enzimas e minerais (Horne, 2019; Fox; McSweeney, 1998; Perrone *et al.*, 2019; Plaza-Dias; Fontana; Gil, 2018).

A produção mundial de leite vem aumentando a cada ano, acompanhando o crescimento populacional e o desenvolvimento de produtos lácteos para atender às demandas de diferentes perfis de consumo. Nesse contexto, o Brasil apresenta a cadeia de produção de leite como uma das suas principais atividades econômicas (Charlton *et al.*, 2019; IBGE, 2022).

A produção de leite deve levar em consideração a qualidade e a segurança de alimentos, o bem-estar dos animais, a higiene do processamento e do transporte do leite para a entrega de produtos dentro de condições exigidas pelos órgãos regulatórios. Assim, as indústrias têm se preocupado em grande parte com a regulação da qualidade e das características dos produtos lácteos, requisitos que devem ser atendidos para que o produto possa ser considerado conforme e liberado para a venda ao consumidor. Esses requisitos são dependentes de resultados confiáveis em relação aos componentes lácteos e para isso são necessários métodos analíticos eficientes (Brasil, 2020b).

A lactose é o principal carboidrato do leite e tem sido objeto de estudo em inúmeras pesquisas, devido ao seu papel em relação aos benefícios nutricionais e às intolerâncias alimentares. A intolerância à lactose é uma condição da maior parte da população mundial e tem recebido grande atenção da comunidade científica e da indústria, principalmente pelo aumento da exigência dos consumidores com intolerâncias alimentares ou que não desejam consumir certos nutrientes e à nova regulamentação nacional para rotulagem de alimentos (Canani *et al.*, 2016; Di Costanzo; Canani, 2018; Lule *et al.*, 2016; McSweeney; Fox, 2009).

As indústrias desenvolvem constantemente diversos produtos reduzidos e isentos em lactose para que pessoas com intolerância ou que não consomem lactose

por outros motivos não deixem de consumir produtos lácteos e conseqüentemente os nutrientes como o cálcio e as proteínas, que são importantes para uma alimentação balanceada. As empresas e universidades têm respondido a isso com o desenvolvimento constante de processos para garantir produtos mais seguros, por meio de métodos analíticos eficientes na detecção da lactose (Charlton *et al.*, 2019; Churakova *et al.*, 2019; Costa *et al.*, 2021; Portnoy; Barbano, 2021).

O trabalho de Portnoy e Barbano (2021) aponta que a lactose será um nutriente de grande importância no futuro em relação ao processamento e rotulagem de alimentos, devido às suas características de cunho tecnológico e nutricional. A lactose tem participação em importantes reações bioquímicas e efeitos na saúde humana, portanto sua análise é fundamental para o controle de qualidade do leite e derivados, seja para a fabricação de produtos reduzidos ou isentos em lactose quanto para a tecnologia de fabricação de outros produtos (Charlton *et al.*, 2019; Churakova *et al.*, 2019; Costa *et al.*, 2021).

O crescente conhecimento sobre a intolerância à lactose e as informações dos consumidores acerca dos alimentos em busca de um estilo de vida mais equilibrado são questões que mostram a importância da realização de análises de lactose. Além disso, as legislações vigentes acerca da identidade, composição e rotulagem dos alimentos, juntamente à cultura de controle de qualidade e segurança, impulsionaram o desenvolvimento de métodos capazes de detectar e quantificar a lactose de forma mais simples e rápida em relação aos métodos tradicionalmente usados (Brasil, 2020b; Brasil, 2022a; Brasil, 2022b; Da Silva *et al.*, 2020; Goff; Hartel, 2013; Portnoy; Barbano, 2021).

Os métodos analíticos tradicionais têm sido cada vez menos utilizados por apresentarem limitações como maior ocorrência de erros, acidentes laboratoriais e maior tempo de análise. Soma-se a isso o aumento da demanda de produção das indústrias, que necessita da entrega de resultados de forma cada vez mais rápida. Já os métodos instrumentais têm evoluído constantemente, apresentando alta eficiência, rapidez, confiabilidade e alto volume de dados gerados, além de serem considerados oficiais por órgãos regulatórios nacionais e internacionais. Assim, sua utilização tem crescido em relação aos métodos tradicionais, porém ainda com desafios a serem superados como custo, dificuldade de implementação, capacitação de operadores e a procura por técnicas que gerem menor volume de resíduos prejudiciais ao meio

ambiente (Acquaro Jr. *et al.*, 2013; Da Silva *et al.*, 2020; Danzer, 1992; Gonzaga *et al.*, 2019; Passos, 2011; Portnoy, Barbano, 2021).

2 OBJETIVOS

A presente revisão integrativa se propõe a abordar a aplicação de métodos analíticos instrumentais para análise de lactose de forma ampla, explorando e contrastando os principais métodos utilizados para produtos lácteos. O comparativo tem o intuito de auxiliar na escolha do método mais eficaz para otimização do controle de qualidade e segurança dos alimentos, de acordo com as expectativas dos consumidores e a legislação vigente.

2.1 Objetivo geral

- Comparar os principais métodos analíticos instrumentais utilizados na detecção e quantificação da lactose em leite e derivados.

2.2 Objetivos específicos

- Verificar a aplicação dos métodos de análise em diferentes produtos lácteos, observando limitações, vantagens, parâmetros analíticos e tipos de amostras analisadas
- Destacar a importância da escolha do método analítico de acordo com a necessidade da empresa, garantindo a segurança do consumidor e a conformidade com a legislação vigente.

3 REVISÃO DA LITERATURA

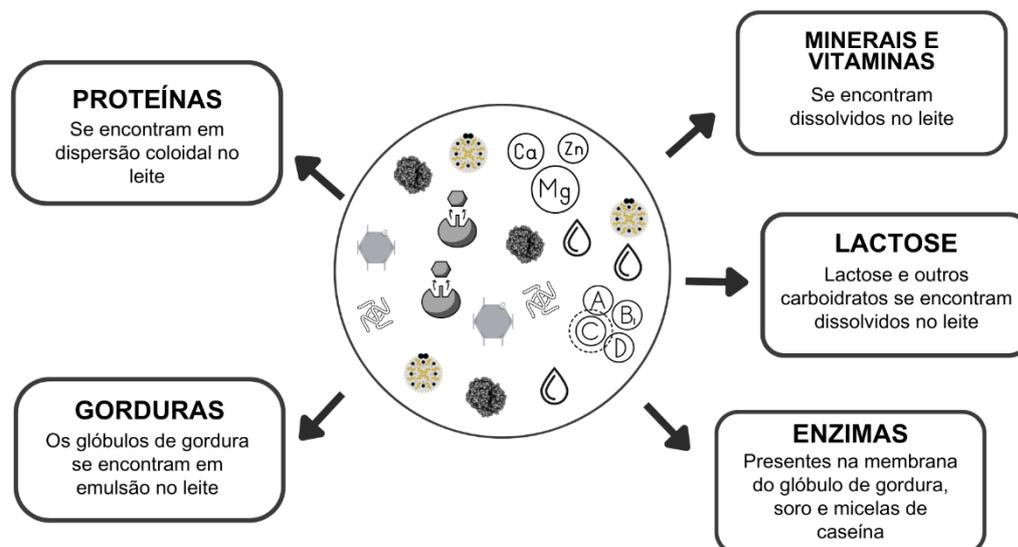
3.1 Leite

O leite é produzido pelas fêmeas dos mamíferos para nutrir os neonatos nos primeiros meses de vida, sendo responsável pelo início do desenvolvimento de sistemas fisiológicos importantes. Sua composição inclui água, proteínas, gordura,

vitaminas, lactose, sais orgânicos e inorgânicos, enzimas e outras moléculas de menor tamanho dispersas ou dissolvidas, formando uma solução única. Apesar da capacidade de produzir leite ser a principal característica que une as diferentes espécies de mamíferos, essa pode variar de acordo com a espécie, raça, saúde do animal (como casos de mastite e infecções), nutrição, estágio de lactação, intervalo entre ordenhas e estação do ano (Horne, 2019; Fox; McSweeney, 1998; Perrone *et al.*, 2019; Plaza-Dias; Fontana; Gil, 2018).

O leite é considerado um sistema bioquímico complexo e dinâmico, com componentes que se encontram em fases de dispersão, emulsão ou solução, como mostra a Figura 1. A gordura se encontra emulsificada em forma de glóbulos circundados por uma camada lipoprotéica, sendo responsável pelo sabor e cor característicos do leite. A fração proteica compreende as caseínas e as proteínas do soro, que se encontram em fases distintas. As caseínas são proteínas de maior tamanho, estrutura mais complexa, resistentes à ação do calor e se encontram em dispersão coloidal. As proteínas do soro são estruturas mais simples e facilmente desnaturáveis durante os tratamentos térmicos, sendo encontradas de forma dissolvida no leite. Os açúcares, minerais, vitaminas e outros compostos de menor peso molecular também se encontram dissolvidos no leite (Fox; Mcsweeney, 1998; Nikam *et al.*, 2018).

Figura 1 - Forma de ocorrência dos principais componentes do leite



Fonte: Adaptado de Fox, McSweeney (1998); Nikam *et al.* (2023).

O consumo de leite materno é imprescindível para o ser humano após o nascimento e a continuidade do consumo do leite de outras espécies contribuiu para mudanças fisiológicas importantes e benefícios para a saúde. De acordo com achados históricos, a partir do período neolítico a humanidade transitou da caça e coleta de alimentos para o cultivo de plantas e criação de animais, iniciando o consumo de leite de outras espécies e produção de seus derivados. Essa mudança não só permitiu a criação de novos alimentos, mas também foi responsável pelo surgimento gradativo da tolerância à lactose, característica que não ocorre naturalmente na espécie humana (Curry, 2013; Smith-Howard, 2017).

Sua importância na alimentação e a possibilidade de se transformar numa variedade de produtos fez do leite um dos alimentos naturais com maior potencial de modificação para atender todo tipo de necessidade e desejo. Os maiores desafios da produção de leite são o transporte e armazenamento, pela variação da produção durante o ano e a necessidade de transporte para a venda e consumo em locais de maior distância. A refrigeração e o tratamento térmico do leite possibilitaram seu consumo diário pelas pessoas em diferentes localidades, além da melhora considerável da segurança microbiológica (Curry, 2013; Smith-Howard, 2017).

O leite é um alimento consumido em todo o mundo e representa um dos mercados globais mais significativos economicamente. Devido ao cenário global de

recessão econômica e inflação, influenciado pela pandemia da Covid-19, foi possível observar um aumento generalizado nos custos de produção, mas ainda sim houve crescimento na demanda mundial por produtos lácteos (ABIQ, 2024; FAO, 2022).

No Brasil, a produção leiteira é considerada fonte de renda principal para muitas famílias rurais e envolve mais de um milhão de produtores, desde a produção agropecuária até o varejo. A produção de leite no Brasil obteve uma melhora significativa nos últimos vinte anos, com um aumento de 80% da produção mantendo praticamente o mesmo número de animais. Isso ocorreu devido ao uso intenso de novas tecnologias, aumento do uso de terras e mão de obra, levando ao aumento da produtividade do rebanho brasileiro. A produção de leite no país tem se mantido de forma constante, em torno de 34 milhões de toneladas por ano, com aumento significativo da exportação de leite nos últimos anos (ABIQ, 2024; Embrapa, 2020; FAO, 2022; Ribeiro Jr. *et al.*, 2020).

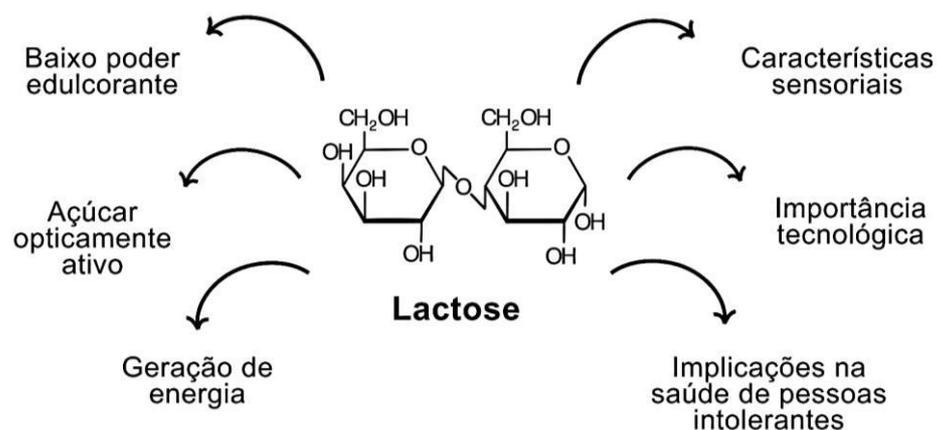
Por sua importância na alimentação, as implicações do consumo de leite para a saúde têm sido extensamente pesquisadas. O trabalho de revisão de Zhang e colaboradores (2021) sintetizou as evidências de uma série de revisões sistemáticas e metanálises, avaliando os resultados das pesquisas existentes em relação aos riscos e benefícios do consumo de leite. Os resultados apontaram que o consumo de leite pode levar a um risco aproximadamente 5,6% menor de desenvolver doenças cardiovasculares e derrames; risco 10% menor de desenvolvimento de câncer colorretal; risco 13% menor de desenvolver síndrome metabólica, que inclui hipertensão, diabetes, hipercolesterolemia e aumento da gordura corporal; risco 16% menor de desenvolver obesidade; risco 39% menor de ocorrência de osteoporose e 17% menor de desenvolver doença de Alzheimer. É importante ressaltar que esses efeitos são fortemente dependentes da dose consumida e do teor de gordura do leite, pois a maioria dos estudos não especifica a dose e o tipo de leite consumido (Gil; Ortega, 2019).

Apesar dos inúmeros benefícios citados, a intolerância à lactose é um distúrbio importante a ser considerado a partir do consumo de leite, devido à sua alta prevalência e morbidade na população mundial. Isto justifica os diversos estudos que vêm sendo realizados abordando o tema, principalmente de forma a informar os riscos e evitar que estes alimentos sejam eliminados da dieta das pessoas (Gil; Ortega, 2019; Zhang *et al.*, 2021).

3.2 Lactose

A lactose, representada quimicamente como β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-D-glucose e $C_{12}H_{22}O_{11}$, é o carboidrato presente em maior quantidade no leite. Sua fonte natural é o leite, podendo ser extraída do mesmo e utilizada em alimentos e medicamentos como ingrediente ou aditivo. É um dissacarídeo formado por uma molécula de glicose e uma de galactose unidas pela ligação glicosídica β (1,4), sendo capaz de se apresentar em diversos estados e inter-relações químicas, de acordo com a temperatura do meio em que se encontra. Na Figura 2 são apresentadas algumas propriedades importantes da lactose que justificam seu emprego nos processos industriais e suas implicações na saúde humana (Dominici *et al.*, 2022; Gänzle; Raase; Jelen, 2008; McSweeney; Fox, 2009).

Figura 2 - Principais propriedades da lactose



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

A síntese da lactose ocorre no tecido epitelial mamário a partir da alimentação dos animais, que leva à formação de moléculas precursoras da glicose na circulação sanguínea. A glicose é absorvida pela corrente sanguínea, alcançando o interior das células, onde é convertida em galactose pelo processo de epimerização. Esse processo consiste em uma mudança de configuração de um monossacarídeo em pelo menos um centro estereogênico pela enzima epimerase, que resulta em mudanças de suas propriedades físicas. No ambiente celular, a galactose é transportada até o complexo

de Golgi, onde a enzima lactose-sintetase irá conectar as moléculas de glicose e galactose através da ligação glicosídica β -(1,4), formando a lactose, que será excretada junto ao leite (Dominici *et al.*, 2022; Ouellette; Rawn, 2018).

A lactose se encontra dissolvida no leite bovino com teor entre 4,8 e 5,1%, sendo pouco variável devido ao equilíbrio osmótico em relação ao sangue. Esse controle é importante para cessar a produção de lactose quando necessário, assim como manter a pressão osmótica controlada quando ocorre um influxo excessivo de cloreto de sódio (NaCl) como em casos de mastite e final de lactação dos bovinos (Fox; McSweeney, 1998; Goff; Hartel, 2013; Mcsweeney; Fox, 2009; Perrone *et al.*, 2019).

Por décadas o leite era considerado um alimento formado por gordura, coalhada e soro, devido aos principais derivados produzidos serem queijos e produtos fermentados. A primeira tentativa de isolamento da lactose ocorreu em 1633 por Bartoletus, que a descreveu como o “sal essencial do soro”. No século XVIII, a lactose tornou-se um importante produto comercial devido ao uso medicinal; no século seguinte foi forjada grande parte do conhecimento em relação a sua estrutura, propriedades e inovação no uso industrial. A lactose sempre foi uma molécula de grande interesse científico, o que levou à descoberta de diversos empregos na indústria farmacêutica e alimentícia, que perdura até os dias atuais (Whittier, 1944; Wong; Hartel, 2014).

Do ponto de vista tecnológico, a lactose é um componente fundamental na fabricação de lácteos fermentados; possui influência direta nas características de produtos concentrados e congelados e é responsável por mudanças sensoriais importantes em produtos lácteos tratados termicamente. Nos produtos fermentados, a lactose é utilizada como substrato por bactérias ácido lácticas, gerando acidez, melhora de textura e das características sensoriais. Na fabricação de produtos lácteos desidratados e concentrados, muitos aspectos físico-químicos e sensoriais são influenciados pela lactose devido à sua solubilidade, função redutora e por ser o componente predominante entre os sólidos totais de produtos como leite em pó, doce de leite e leite condensado (Goff; Wartel, 2013; Hettinga, 2019; Da Silva *et al.*, 2020; Mcsweeney; Fox, 2009; Portnoy; Barbano, 2021).

A lactose comercial é utilizada na fabricação de produtos para confeitaria e prontos para consumo, assim como medicamentos e fórmulas infantis. Produtos lácteos com baixo teor ou sem lactose têm dominado o mercado atual por necessidades e preferências dos consumidores intolerantes ou que buscam alimentos de acordo com

seu estilo de vida. Assim, o controle do processo de hidrólise da lactose e sua detecção têm evoluído constantemente (Hettinga, 2019; Portnoy; Barbano, 2021).

Por se apresentar menos doce, possuindo cerca de 30% do poder adoçante da sacarose, a lactose pode ser adicionada em diversos produtos de panificação e confeitaria, aumentando o teor de sólidos sem apresentar dulçor excessivo. Pode ser utilizada para substituir parte da sacarose em alguns produtos, gerando melhor aceitação sensorial como melhor palatabilidade, preenchimento e viscosidade (Dominici *et al.*, 2022; Mesías, Delgado-Andrade, 2017).

A lactose é um carboidrato com função química redutora que, com ação do calor, promove uma reação de escurecimento não-enzimático, conhecida como reação de Maillard. A reação de Maillard ocorre entre a glicose, porção redutora da lactose, com grupamentos aminas das proteínas lácteas e produz alteração nas características sensoriais dos alimentos, gerando cor, sabor e odor agradáveis. Quando ocorre em condições controladas de temperatura, a reação de Maillard gera compostos como as melanoidinas, que são relacionadas com efeitos antioxidantes, antimicrobianos, antiinflamatórios, anti-hipertensivos e prebióticos. No entanto, é uma reação que pode apresentar efeitos indesejáveis quando não há monitoramento correto e prolongamento das etapas de armazenamento ou aquecimento, como alterações sensoriais desagradáveis em produtos lácteos em pó e a formação de compostos potencialmente prejudiciais à saúde, como o hidroximetilfurfural (HMF) (Dominici *et al.*, 2022; Francisquini *et al.*, 2017; Mesías, Delgado-Andrade, 2017).

Da perspectiva nutricional, a lactose é indispensável para os mamíferos, ao gerar energia de longa duração para recém-nascidos e auxiliar no desenvolvimento dos sistemas imunológico, neurológico e gastrointestinal. A lactose também é responsável pela manutenção de parte da pressão osmótica do leite e do sangue, além de possibilitar a absorção de cálcio, vitaminas e proteínas pelo organismo. No organismo de indivíduos tolerantes há a presença da enzima lactase ou β - galactosidase nas vilosidades intestinais, que tem função de hidrolisar a lactose em monossacarídeos, que são mais facilmente absorvidos pelas células para alcançar a corrente sanguínea. O processo de hidrólise da lactose também proporciona geração de energia por um tempo maior, sendo uma vantagem para os recém-nascidos. A absorção da lactose depende da atividade da lactase e o tempo que a lactose passa pelo sistema intestinal (Dominici *et al.*, 2022; Lule *et al.*, 2016).

O consumo de produtos contendo lactose apresenta efeitos benéficos, pois é uma fonte energética de baixo índice glicêmico, sendo uma vantagem em relação ao consumo de outros açúcares, além do seu papel importante na absorção do cálcio para a fisiologia óssea (Gutiérrez-Méndez, 2020; Hodges; Calis; Karakan; Tuohy; Solingen, 2021; Mcsweeney; Fox, 2009; Weaver, 2019).

Outros estudos mostram que os derivados da lactose apresentam diversos benefícios à saúde. A lactulose tem função importante como prebiótico para a fisiologia intestinal. Prebióticos são substratos utilizados pela microbiota intestinal, que promovem o crescimento de microrganismos benéficos como *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp.; inibem microrganismos patogênicos; produzem metabólitos benéficos como ácidos graxos de cadeia curta e melhoram a absorção de minerais. O Ácido Linoléico Conjugado (CLA) tem mostrado resultados importantes como a capacidade de modular a composição de ácidos graxos no fígado e tecido adiposo, com efeitos positivos na prevenção de doenças crônicas como hipertensão, hiperlipidemia e sobrepeso (Dominici *et al.*, 2022; Gutiérrez-Méndez, 2020; Hodges; Calis; Weaver, 2019; Karakan; Tuohy; Solingen, 2021; Plaza-Dias; Fontana; Gil, 2018; Romero-Velarde *et al.*, 2019; WHO, 2023).

3.3 Intolerância à lactose

A intolerância à lactose é uma síndrome caracterizada pela ocorrência de sintomas gastrointestinais quando há o consumo de produtos lácteos por pessoas que apresentam baixa ou nenhuma produção de lactase. Nesse caso, a lactose chega ao intestino de forma intacta, gerando alterações na pressão osmótica e no transporte de fluidos, causando diarreia. Ao alcançar o intestino grosso, a lactose é metabolizada pela microbiota, levando a formação e acúmulo de gases, que causam desconforto abdominal, dores e flatulência. Portanto, a maioria dos sintomas da intolerância à lactose são de natureza gastrointestinal. Podem ocorrer dores de cabeça, vertigem, enjôo e náuseas em indivíduos mais sensíveis (Canani *et al.*, 2016; Lule *et al.*, 2016).

Existem três tipos de deficiência na produção de lactase: deficiência congênita; intolerância primária ou deficiência de lactase do tipo adulto; e deficiência secundária. A deficiência congênita de lactase se caracteriza por uma alteração genética rara, em que o indivíduo nasce com ausência ou redução da produção da lactase. A intolerância

primária é uma alteração genética da expressão do gene responsável por produzir lactase, resultando em uma maior dificuldade na digestão da lactose após a infância. É o tipo mais comum de intolerância à lactose. A deficiência de lactase secundária é caracterizada por ser transitória, sendo causada por doenças intestinais que podem reduzir ou cessar a produção enzimática. Entre pessoas tolerantes, ocorre uma redução gradual da produção de lactase com o avanço da idade, o que pode dificultar o consumo de lácteos (Di Costanzo; Canani, 2018; Heaney, 2013).

As opções de tratamento consistem em restrição alimentar ou uso de medicamentos. O tratamento da doença de base geralmente leva ao aumento da produção enzimática e conseqüente redução dos sintomas. Parar de consumir leite e derivados geralmente é a primeira ação do paciente após o diagnóstico da condição, no entanto, não é a melhor estratégia considerando os nutrientes benéficos que esses alimentos possuem. As pessoas intolerantes à lactose devem optar pela redução de lácteos na dieta e consumir alimentos como queijos maturados e produtos reduzidos ou sem lactose, associado a tratamentos para o aumento gradativo da produção enzimática (Catanzaro; Sciuto; Marotta, 2021).

Tendo em vista as implicações nutricionais, econômicas e culturais do consumo de lácteos, a detecção da lactose é um aspecto de grande importância como instrumento de garantia da segurança do alimento, levando o consumidor a ter maior conhecimento das informações nutricionais, tipos de produtos e quantidades a serem ingeridas. Porém essas informações devem chegar ao consumidor através de uma rotulagem correta e compreensível para que esse faça escolhas mais saudáveis e seguras (Di Costanzo; Canani, 2019; Facioni *et al.*, 2020).

3.4 Produtos reduzidos ou isentos em lactose

O mercado atual tem se concentrado em alimentos reduzidos e isentos em lactose com o intuito de oferecer cada vez mais opções para a população que apresenta intolerância ou que não deseja consumir esse carboidrato. Para a fabricação de produtos com baixas concentrações ou isentos de lactose são utilizados dois principais processos: enzimático ou tecnologia de filtração por membranas (Portnoy; Barbano, 2021).

A utilização do processo enzimático mediante a adição de lactase é o método mais empregado pela simplicidade, custo acessível e fácil disponibilidade de enzimas para as indústrias. A adição pode ocorrer antes ou após o tratamento térmico, dependendo do processamento. É um processo que deve ser cuidadosamente controlado em termos de temperatura e higiene, a fim de evitar alterações químicas e sensoriais nos produtos após o tratamento térmico e prevenir contaminações durante o processo de adição enzimática. Ao final da fabricação, é fundamental assegurar que os níveis de lactose estejam dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação (Hettinga, 2019).

A filtração por membranas é utilizada para separação dos componentes do leite por tamanho molecular, isso é, quanto menor o tamanho dos poros, mais componentes serão retidos e apenas pequenas moléculas conseguirão perpassar. A ultrafiltração (UF) gera um retentado com alto teor de proteínas e o permeado rico em lactose, enquanto a nanofiltração (NF) separa a lactose dos demais constituintes do leite. A combinação dos dois processos leva à retenção de grande quantidade de lactose do leite para ser utilizada em outras fabricações, gerando um permeado com teores mínimos de lactose. No entanto, a filtração por membranas não é capaz de retirar a totalidade da lactose para fabricar produtos zero lactose. Dessa forma, o processo deve ser finalizado de forma enzimática para garantir níveis ínfimos de lactose no produto (Hettinga, 2019).

3.5 Aspectos regulatórios em relação ao teor de lactose em produtos lácteos

Não existe um padrão regulatório internacional para os teores de lactose em alimentos, dificultando a definição de critérios para produtos reduzidos e isentos, criando um panorama normativo muito heterogêneo em nível mundial. Essas diferenças são evidenciadas na Tabela 1, que mostra os diferentes padrões para teor de lactose estabelecidos por diversos países para a rotulagem de produtos lácteos (Costa *et al.*, 2021; Churakova *et al.*, 2019).

Tabela 1 - Padrões regulatórios para teores de lactose em diferentes países

Origem	Classificação
--------	---------------

País	“Baixo teor de lactose”	“Sem lactose”
Brasil	> 100 mg e ≤ 1 g/100 g ou mL*	< 100 mg/100 g ou mL*
Dinamarca, Estônia, Finlândia, Noruega, Suécia	1 g/100 g*	10 mg/100 g*
Alemanha, Eslovênia	Não disponível	< 100 mg/100 g*
Hungria	Não disponível	< 100 mg/100 g ou mL*
Irlanda	1 g/100 g*	Ausência de lactose e galactose
Espanha	< 1 g/100 g	< 10 mg/100 g
Índia	< 1 g/100 g	< 100 mg/100 g

* de produto final

Fonte: EFSA (2010); AESAN (2019); FSSAI (2020); FSA (2010).

Mesmo entre os países pertencentes à União Europeia, que busca uma consonância entre aspectos regulatórios, as divergências na classificação de produtos com base nos teores de lactose são marcantes. Enquanto alguns países adotam critérios mais rigorosos, outros seguem padrões semelhantes aos do Brasil, resultando em uma variedade de abordagens normativas dentro do mesmo bloco econômico. Por exemplo, a Espanha e os países nórdicos definem produtos com até 10 mg de lactose por 100g como "sem lactose", estabelecendo um limite que pode ser considerado mais permissivo. Já a Irlanda mantém um padrão mais estrito, exigindo que os produtos sejam ausentes em lactose e galactose para serem rotulados como "sem lactose" (AESAN, 2019; EFSA, 2010; FSA, 2010).

Essas diferenças não apenas refletem as abordagens regulatórias adotadas por cada país, mas também evidenciam as preocupações e demandas específicas de cada mercado em relação à saúde e segurança do consumidor, bem como à saúde pública. Além disso, destacam a necessidade de uma maior cooperação internacional para estabelecer padrões regulatórios mais uniformes e facilitar o comércio de alimentos entre fronteiras.

No Brasil, observa-se uma tendência crescente em direção a um maior controle e transparência na rotulagem dos alimentos em relação à presença de lactose, refletida na legislação atual. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) promoveu mudanças significativas nas regulamentações, com o objetivo de revisar os requisitos sanitários e nutricionais para a produção de alimentos, assim como para a rotulagem dos mesmos. Um exemplo disso é a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 715/2022, que resultou da revisão de diversas portarias e resoluções anteriores, como as Portarias SVS/MS n° 54/1995, SVS/MS n° 29/1998, SVS/MS n° 30/1998, além das RDC n° 135/2017 e n° 155/2017. Essas normativas abordavam cada componente de forma independente, sendo reunidas na RDC n° 715/2022, que estabelece parâmetros mais rigorosos de segurança para diversos componentes e alimentos, incluindo o sal hipossódico, alimentos para controle de peso, produtos para dietas com restrição de nutrientes e alimentos destinados a dietas com ingestão controlada de açúcares (Brasil, 2022b; Demarest, 2022).

Outra regulamentação importante é a RDC n° 727/2022, que resultou da revisão de normas anteriores, como a RDC n° 259/2002, n° 123/2004 e n° 340/2002, incluindo a Instrução Normativa (IN) n° 67/2020. Esta resolução estabelece novos critérios para as informações presentes nos rótulos dos alimentos, com o objetivo de tornar as informações mais compreensíveis para os consumidores, promovendo uma maior transparência e facilitando a tomada de decisão durante o processo de compra. A Tabela 2 sintetiza essas informações (Brasil, 2020b, 2022b, 2022c; Demarest, 2022).

Tabela 2 - Teores de lactose e informação no rótulo de acordo com a legislação brasileira atual

Teor de lactose	Informação no rótulo
-----------------	----------------------

Maior que 100 mg por 100 g ou mL de alimento pronto para consumo	"Contém lactose"
Maior que 100 mg e igual ou menor do que 1 g por 100g ou mL de alimento pronto para consumo	"Baixo teor de lactose" ou "baixo em lactose"
Inferior a 100 mg por 100g ou mL de alimento pronto para consumo	"Isento de lactose", "zero lactose", "0% lactose", "sem lactose" ou "não contém lactose"

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Para as indústrias cumprirem os critérios regulatórios estabelecidos, a adoção de métodos analíticos de alta qualidade é fundamental. Embora os métodos instrumentais sejam mais eficazes e ofereçam resultados de alta confiabilidade, eles também acarretam custos mais elevados para as empresas. Nesse contexto, o desenvolvimento de métodos mais acessíveis se torna essencial para o controle da produção de produtos lácteos com baixo teor ou isentos de lactose, visando garantir a segurança do consumo. Isso é especialmente importante para atender às necessidades da população intolerante à lactose, daqueles que optam por evitar produtos contendo lactose e de grupos etários mais sensíveis à presença desse componente (Goff; Hartel, 2013).

3.6 Relevância do desenvolvimento de métodos para análise do teor de lactose em produtos lácteos

A detecção da lactose pode ter uma aplicação muito além da análise de produtos reduzidos ou sem lactose para públicos consumidores específicos. No leite e soro em pó, a lactose representa grande parte dos sólidos da composição e a análise pode gerar informações importantes em relação à qualidade do processamento, do perfil nutricional e funcional desses produtos. Na produção de soro em pó, como concentrados e isolados proteicos, a lactose também é incluída na avaliação desse conteúdo, pois deve estar em equilíbrio com o teor de proteína durante a fabricação de produtos de maior valor comercial e de acordo com teor padrão mínimo de proteína. Para a fabricação de queijos, a lactose é fundamental para a fermentação bacteriana e as transformações bioquímicas e sensoriais desejáveis nesses produtos. O controle do teor de lactose auxilia ao limitar o processo de fermentação, melhorando a durabilidade

dos queijos e evitando que ocorram outros tipos de fermentação por microrganismos indesejáveis. No caso de queijos como a muçarela, utilizados em alimentos que sofrem cozimento, o monitoramento da lactose pode auxiliar no controle da acidez e de reações de escurecimento conhecidas como *browning*, que são propriedades importantes para a manutenção da qualidade desse produto (Goff; Hartel, 2013; Portnoy; Barbano, 2021).

Na produção animal, a tendência é que a lactose seja considerada um parâmetro importante na qualidade da produção leiteira. Por ser o componente com pouca variação durante a produção do leite, dados sobre a lactose podem ser importantes para a melhoria do balanço energético dos animais e controle da dieta oferecida, contribuindo para o aumento da produção de leite por animal. A sua pouca variabilidade também está sendo vista como futuro critério de pagamento para produtores. Atualmente os componentes lácteos mais valorizados são a proteína e a gordura, e esses variam bastante em relação ao indivíduo, raça, estação do ano, época de lactação e tipo de alimentação. Essa variação afeta o ganho dos produtores, pois os laticínios têm aderido mais ao pagamento por qualidade, isso é, pelos teores dos componentes específicos do que pelo volume de leite recebido (Portnoy; Barbano, 2021).

Para a saúde animal, o teor de lactose no leite pode ser um indicador importante no diagnóstico de mastite, processo inflamatório da glândula mamária, que ocorre principalmente por infecções bacterianas. A mastite pode ocorrer de duas formas: a forma clínica, em que o animal apresenta sinais e sintomas visíveis como inflamação do úbere e alterações macroscópicas no leite, como grumos ou presença de sangue; e a forma subclínica, em que o animal não apresenta sintomatologia ou alterações no leite e o diagnóstico é feito por testes específicos para detectar a presença de células somáticas, produzidas como mecanismo de defesa contra infecções. Na forma subclínica, há redução do teor de lactose do leite por diversas causas. Ocorrem danos às células secretoras de leite; alteração da permeabilidade da membrana basal das células do tecido mamário, acarretando perda de parte da lactose pela urina do animal e microrganismos patogênicos que utilizam a lactose como substrato fermentativo. Dessa forma, a detecção da lactose por técnicas precisas e eficazes pode contribuir para a melhoria do sistema produtivo desde a alimentação e produção animal até a

qualidade e segurança do produto exposto à venda para o consumidor (Costa *et al.*, 2019; Maiochi; Rodrigues; Wosiacki, 2019; Portnoy; Barbano, 2021).

3.7 Métodos para análise de lactose em produtos lácteos

A química analítica é a área que procura entender as informações químicas sobre a estrutura e a composição de um material, de forma a distinguir seus componentes, o teor de cada um e a relação entre eles dentro de uma amostra. No caso da análise de um alimento, essa pode ser feita de forma qualitativa, separando e identificando os diversos componentes dentro de uma amostra, ou quantitativa, verificando o teor de cada componente. Os principais métodos para análise da lactose em produtos lácteos são titulométricos, enzimáticos e instrumentais (Danzer, 1992; Passos, 2011; Otles; Ozyurt, 2015).

A determinação da lactose pode ser realizada desde técnicas laboratoriais tradicionais até métodos instrumentais mais complexos e de maior sensibilidade. Os métodos analíticos tradicionais são as titulações gravimétricas, que determinam a massa do composto de interesse e as titulações volumétricas, que determinam o volume da solução contendo compostos que reagem com o analito de interesse. São métodos que envolvem reações químicas, de extração ou dissolução, além de cálculos estequiométricos, que podem expor os resultados à erros e tempo de análise mais prolongado (Passos, 2011).

Os métodos titulométricos são usados para determinar açúcares a partir da sua função redutora sobre outros compostos químicos, produzindo substâncias que apresentam cores específicas ou precipitados, que são quantificados. Os métodos titulométricos mais utilizados são as técnicas de Lane-Eynon e da Cloramina- T, que se baseiam na determinação de açúcares redutores. Porém o método não é capaz de distinguir os carboidratos, dificultando a análise específica da lactose e de produtos com lactose hidrolisada. São métodos demorados e que exigem pessoas qualificadas, pois o erro associado ao analista se torna maior, além do contato com reagentes de diferentes níveis de periculosidade. Esses métodos estão sendo cada vez menos utilizados, pois as empresas têm procurado por maior eficiência, sensibilidade e rapidez nos resultados analíticos (Da Silva *et al.*, 2020; Tavares, 2010).

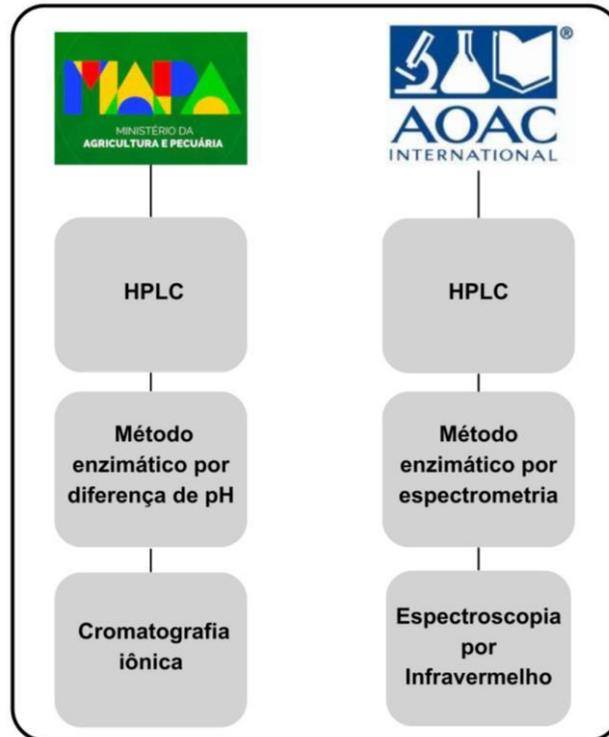
Os métodos enzimáticos são aqueles em que o composto a ser determinado sofre ação de enzimas, gerando compostos que serão quantificados por espectrofotometria ou diferença de pH. Podem ser adquiridos em kits ou realizados em laboratórios. Podem ser metodologias sujeitas à erros e demoradas, porém são consideradas oficiais por órgãos regulatórios (Da Silva *et al.*, 2020).

Os métodos instrumentais se utilizam de instrumentos eletrônicos e controle computacional para uma caracterização completa da composição e das propriedades de uma amostra, gerando análises precisas e grande volume de dados. Esses métodos são uma aquisição importante para áreas de pesquisa e indústria, pois análises de maior exatidão são fundamentais para manter a qualidade e a segurança do alimento a ser fabricado e posteriormente consumido (Danzer, 1992; Otles; Ozyurt, 2015).

A Instrução Normativa nº 30 de 26 de junho de 2018 estabelece como oficiais os seguintes métodos para detecção de lactose: norma IDF 214 | ISO 26462: 2010 para determinação da lactose por método enzimático usando diferença de pH para leite fluido; norma ISO 22662:2007 | IDF 198:2007 atualizada para IDF 198 | ISO 22662:2024, considerado de referência para determinação do teor de lactose pelo método *High Performance Liquid Chromatography* (CLAE/HPLC) em leite cru, leite tratado termicamente, leite em pó, permeado lácteo, permeado lácteo em pó e creme de leite cru e pasteurizado. Além do método de determinação da lactose por cromatografia iônica para outros produtos lácteos. Por serem métodos oficiais, sua eficiência e confiabilidade são consideradas de alto nível (Brasil, 2018; Brasil, 2022c; IDF, 2024).

A *Association of Official Analytical Collaboration International* (2018) e IDF (2024) definem os métodos HPLC/CLAE, enzimáticos por espectrometria e de espectroscopia por Infravermelho (IV) como oficiais por atenderem aos Requisitos de Desempenho do Método Padrão ou *Standard Method Performance Requirements* (SMPRs®) para análise de lactose em leite com baixo teor de lactose ou sem lactose, produtos lácteos e produtos que contenham ingredientes lácteos. A Figura 3 ilustra os métodos instrumentais considerados oficiais pelos órgãos reguladores citados.

Figura 3 - Métodos oficiais de análise do teor de lactose em produtos lácteos



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

4 MÉTODOS

A revisão proposta comparou os principais métodos instrumentais de análise de lactose em produtos lácteos, visando fornecer uma visão abrangente das informações disponíveis na literatura, caracterizando uma revisão do tipo integrativa. Trabalhos de revisão são fundamentais na área científica, permitindo a identificação de lacunas de pesquisa, a construção de revisões teóricas e a análise de metodologias, contribuindo para debates e novos estudos (Dantas *et al.*, 2022; UNESP, 2015; Schneider; Pereira; Ferraz, 2020; Souza; Silva; Carvalho, 2010).

O desenvolvimento de uma revisão integrativa segue as etapas de coleta, síntese e comparação de informações relacionadas à pergunta de pesquisa, para extrair informações relevantes ao tema. Na primeira etapa, o foco foi delimitar o tema e formular a questão de pesquisa relevante para a análise de produtos lácteos, considerando desafios como regulamentações, custos, tempo de resultados, treinamento técnico e confiabilidade dos métodos.

Na segunda etapa, foram definidos critérios de seleção de estudos e realizada uma revisão integrativa da literatura, com busca em várias bases de dados utilizando descritores específicos. Foram incluídos estudos publicados a partir de 2013 para acompanhar o desenvolvimento de novas técnicas e equipamentos, priorizando publicações em inglês devido ao seu alcance na comunidade científica. A relevância do estudo abrangeu a análise de produtos reduzidos ou sem lactose e o uso de métodos analíticos instrumentais, enquanto foram excluídos estudos sobre outros alimentos, leite de outras espécies, análises de antibióticos e outros componentes lácteos além da lactose.

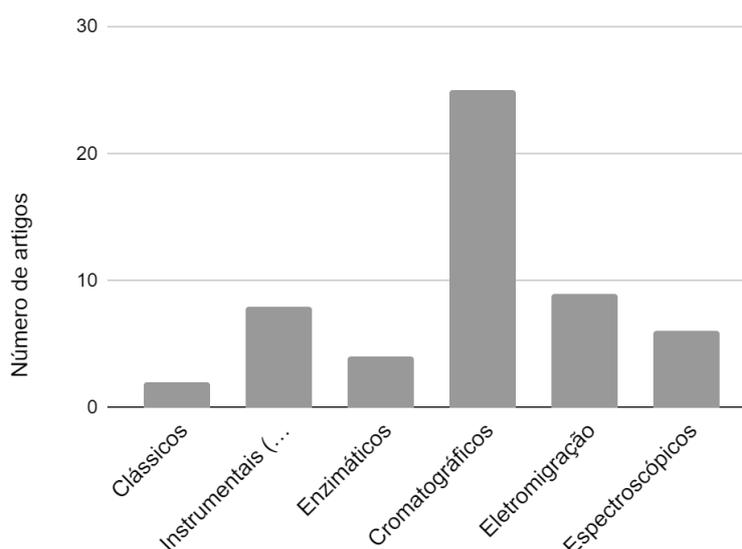
Na terceira etapa, os métodos analíticos mais encontrados foram selecionados e comparados em termos de suas características e qualidade dos parâmetros analíticos. Na quarta etapa, os estudos selecionados foram analisados em detalhes, considerando a qualidade analítica, tipos de amostras, preparo necessário, resultados e vantagens/limitações dos métodos. A quinta etapa envolveu a discussão crítica dos resultados e implicações para a melhoria dos métodos de análise de lactose. Finalmente, na sexta etapa, as informações foram sintetizadas para abordar a pergunta de pesquisa de forma abrangente, delineando os principais métodos instrumentais disponíveis e sua aplicabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da pesquisa realizada na literatura e avaliação criteriosa dos trabalhos encontrados, foram selecionados 52 artigos, como ilustra a Figura 4. Foi feita a seleção de trabalhos que abordavam métodos analíticos de forma comparativa: dois tratavam de métodos analíticos clássicos e 8 de métodos instrumentais, destacando vantagens e restrições do uso para análise da lactose em produtos lácteos.

Dentro os métodos instrumentais, foram selecionados 4 artigos abordando métodos enzimáticos, por tratarem sobre o fundamento da técnica e suas propriedades analíticas. Foram selecionados 25 artigos sobre métodos cromatográficos, em função dos diferentes equipamentos de detecção e separação para determinação da lactose e dos níveis de qualidade analítica que cada técnica pode apresentar. Para métodos de eletromigração foram selecionados 9 trabalhos que tratavam da qualidade analítica, dos aspectos que destacam a técnica na determinação de carboidratos e das barreiras que essa enfrenta para uso na rotina industrial. Foram selecionados 6 artigos sobre métodos espectroscópicos, em função da técnica ser bastante utilizada para determinação da lactose, possuir baixo custo e apresentar bons resultados para produtos delactosados.

Figura 4 - Artigos selecionados para a revisão

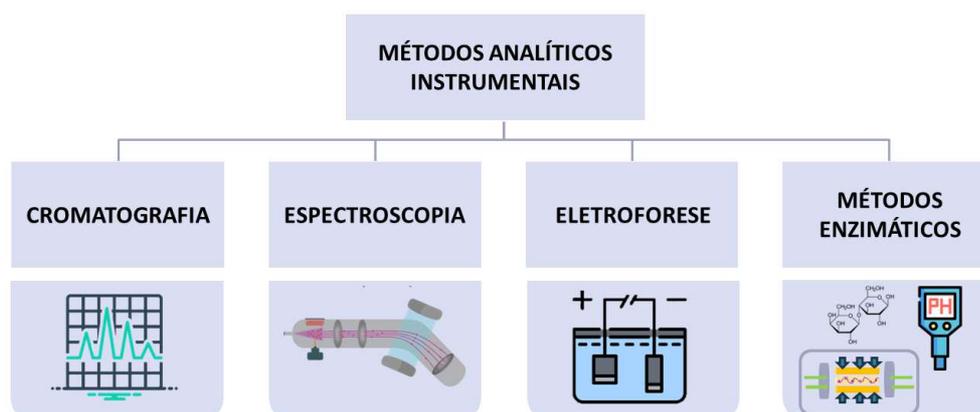


Fonte: Elaborado pela autora (2024).

5.1 Principais métodos analíticos instrumentais para análise de lactose

De acordo com os estudos analisados, os métodos instrumentais apresentam vantagens devido à alta eficiência, exatidão e sensibilidade dos equipamentos, capacidade de gerar grande volume de dados e alta confiabilidade dos resultados, além de reduzir a probabilidade de ocorrência de erros nas análises. Essas técnicas têm se tornado mais acessíveis para empresas e laboratórios, e são reconhecidas como métodos oficiais por órgãos regulatórios. A Figura 5 apresenta os métodos mais relevantes para análise de lactose selecionados para a revisão, como os cromatográficos, enzimáticos, eletroforéticos e espectroscópicos (Da Silva *et al.*, 2020; Danzer, 1992).

Figura 5 - Métodos analíticos instrumentais selecionados para a revisão



Fonte: Elaborado pela própria autora (2023).

A qualidade analítica dos métodos é avaliada por meio de parâmetros como Limites de Detecção (LOD) e de Quantificação (LOQ), eficiência, exatidão e seletividade, além de outros aspectos como dificuldade de preparo de amostra; complexidade do equipamento; necessidade de operadores capacitados; custo e dificuldade de execução das análises. O LOD pode ser estabelecido como a menor quantidade de analito que pode ser detectada pelo método e LOQ como a menor quantidade do analito que pode ser determinada de forma quantitativa na amostra com precisão e exatidão dentro dos limites estabelecidos. São valores que determinam a sensibilidade do método: quanto menores os limites de detecção e quantificação do

composto de interesse, maior é a sensibilidade analítica do método (INMETRO, 2020; AOAC Internacional, 2018; Brasil, 2017).

A seletividade ou especificidade é a capacidade do método de quantificar um analito na presença de interferentes ou outros compostos, distinguindo a resposta do analito das demais. A avaliação da seletividade do método compreende ensaios com padrões ou materiais de referência ou amostras com e sem o analito selecionado. A exatidão do método é expressa pelo percentual de recuperação do analito de concentração conhecida adicionado à amostra ou pela relação entre a concentração teórica do analito e a concentração média determinada de forma experimental. A faixa de recuperação aceitável aumenta conforme a concentração do analito diminui, de acordo com valores dispostos pelos órgãos reguladores como a ANVISA e a AOAC Internacional (Acquaro Jr. *et al.*, 2013; Brasil, 2017; AOAC Internacional, 2018; INMETRO, 2020; Oxford Languages, 2024).

As análises instrumentais possibilitam ganho de tempo para as indústrias e laboratórios, ao analisar maior quantidade de amostras em menor tempo e de forma uniforme. Além disso, são métodos que conseguem superar a barreira analítica em relação aos produtos baixos ou isentos em lactose, por serem capazes de detectar teores residuais mínimos nesses produtos (Mangan *et al.*, 2018; Da Silva *et al.*, 2020).

5.1.1 Métodos cromatográficos

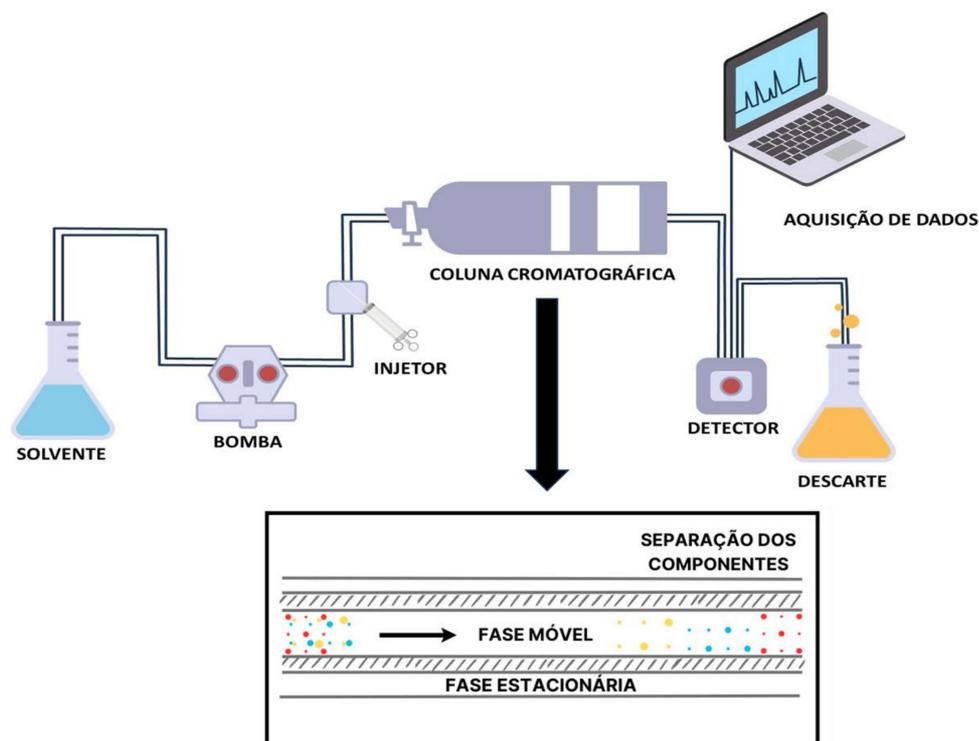
Os métodos cromatográficos são os mais utilizados pelas indústrias pelo seu alto nível de sensibilidade, exatidão e eficiência. A cromatografia é baseada na diferença de migração dos compostos de uma mistura através de interações variadas entre as fases móvel e estacionária, contidas em colunas cromatográficas. Esses componentes vão se distribuindo pelas fases e vão sendo retidos de forma seletiva na fase estacionária, tornando possível a distinção das velocidades de migração e consequente identificação. Os modos de operação da cromatografia se dividem de acordo com o estado que a fase móvel se encontra: líquida, gasosa ou iônica (Amorim, 2019).

5.1.1.1 Cromatografia líquida

O método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE/HPLC) é o método considerado oficial e o mais utilizado para análise da lactose em leite e derivados. É bastante utilizado pela sua versatilidade, apresentando diferentes tipos de colunas e detectores que permitem definir a resolução e o limite de detecção desejados para a análise. É um método analítico de alta sensibilidade, necessita de pouco volume de amostra e possui vasta aplicabilidade na área industrial e científica (Brasil, 2022a; Da Silva *et al.*, 2020; Silveira *et al.*, 2015).

A técnica cromatográfica se baseia na migração do composto de interesse da amostra em uma fase móvel líquida, em que há a separação dos componentes através da interação com a fase estacionária, propiciando a separação e quantificação desses compostos. A amostra é injetada no sistema e é bombeada para o fluxo da fase móvel e seus componentes migram em velocidades diferentes através da coluna, dependendo da sua interação com a fase estacionária. Os compostos são identificados e um sinal é gerado na passagem pelo detector, correspondente à concentração do analito de escolha, como ilustrado na Figura 6. Nesse método, a separação de componentes ocorre de forma relativamente rápida e com menor consumo de reagentes. É uma boa opção analítica para a detecção simultânea de carboidratos sem ocorrer interferências, para a detecção de teores mínimos de lactose e apresenta versatilidade em relação aos equipamentos. Para análise de quantidades muito baixas de lactose, o método apresenta bons resultados em relação à sensibilidade e precisão analítica (Aryal, 2023; Baraldi; Rocha, 2018; Da Silva *et al.*, 2020 Silveira *et al.*, 2015).

Figura 6 - Figura esquemática do método de cromatografia líquida



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Trani e colaboradores (2017) compararam métodos enzimáticos, método HPLC com detector de Índice de Refração (HPLC-RI) e com detector de espectrometria de massas (HPLC-MS) para análise da lactose residual em amostras de leite UHT (*Ultra High Temperature*) sem lactose. Os métodos enzimáticos não apresentaram bons resultados na análise quantitativa em relação aos cromatográficos. A análise por HPLC-RI apresentou sensibilidade dentro de níveis específicos de LOD e LOQ, porém acima do reportado na literatura. Além disso, o cromatograma gerado apresentou ausência de pico para lactose e pico duplo e sem definição para galactose e glicose, concluindo que o método não foi capaz de diferenciar os monossacarídeos nas amostras. O método HPLC-MS apresentou os menores valores para limites de detecção e quantificação, demonstrando ser um método de detecção mais sensível para produtos com baixos teores de lactose.

Quanto à seletividade do método HPLC, Manzi e Pizzoferrato (2013) compararam diferentes equipamentos em relação à análise simultânea da lactose e da lactulose em leite UHT e mostraram que equipamentos convencionais com diferentes detectores são capazes de separar e quantificar os dois açúcares de forma simultânea mesmo a lactulose presente em quantidades muito baixas no leite.

Dentro do escopo da Química Verde (*Green Chemistry*), métodos são desenvolvidos com o objetivo de reduzir o uso de reagentes químicos no preparo de amostras e nas análises e, conseqüentemente, o descarte de resíduos tóxicos para o meio ambiente. Acquaro Jr. e colaboradores (2013) desenvolveram um método HPLC-RI utilizando água na fase móvel e etanol no preparo de amostras de leite. O método visou a otimização da extração da lactose para evitar danos às colunas cromatográficas e de acordo com os princípios da Química Verde. O método teve seletividade confirmada pelo tempo de retenção do analito igual ao apresentado pelo padrão externo e pelas amostras. Não houve presença de interferentes na análise pela ausência de resposta analítica para injeção de água ultrapura durante o tempo de retenção. A exatidão do método foi comprovada pela taxa de recuperação média de 105%. A substituição dos reagentes habituais pelo etanol mostrou ser uma opção de fácil aquisição, menor custo e baixa toxicidade, contribuindo para uma análise mais sustentável (Gonzaga *et al.*, 2019).

Já o trabalho de Gonzaga e colaboradores (2019) apresentou o método HPLC-RI como alternativa ao utilizar água como reagente para o preparo das amostras e na fase móvel. A seletividade do método foi comprovada ao comparar os cromatogramas gerados com os padrões e pela ausência de interferentes como a sacarose, que se encontrava em baixas quantidades nas amostras. A ausência de sinal analítico foi observada na amostra de leite sem lactose durante o tempo de retenção da lactose, demonstrando a especificidade do método.

Os métodos mais sustentáveis podem apresentar maior economia, pois quando usados outros solventes tradicionais, são necessários tratamentos da amostra para compatibilidade com as colunas cromatográficas, envolvendo mais etapas e uso de equipamentos como centrífugas. O uso de água no preparo de amostras eliminou essa necessidade, reduzindo os custos de eletricidade, mão de obra e desperdício de produtos químicos (Gonzaga *et al.*, 2019).

Nesses trabalhos, o método HPLC obteve resultados de alta qualidade utilizando reagentes não tóxicos, contribuindo para menor geração de resíduos, além de demonstrar confiabilidade com bons índices analíticos. A tendência de sustentabilidade tem se fortalecido ao longo dos anos na indústria de alimentos, desde os métodos de fabricação, embalagens e equipamentos até os métodos de análise de qualidade dos produtos (Acquaro Jr., 2013; Gonzaga *et al.*, 2019).

A Cromatografia Líquida por Interação Hidrofílica ou *Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography* (CIH/HILIC) utiliza coluna com fase estacionária hidrofílica de fase normal, porém aplicando fase móvel do método de fase reversa, contendo água, solução tampão e solvente orgânico miscível em água. A separação dos compostos ocorre de acordo com a polaridade: quanto maior a polaridade do analito e menor a polaridade da fase móvel, maior a retenção pela fase estacionária. O método foi utilizado na análise de amostras de leite sem lactose com detector de espectrometria de massas (MS) para melhor resolução e qualidade dos resultados. Foi conduzida a análise de marcas de leite consideradas sem lactose para determinar se estavam de acordo com o padrão definido pela legislação espanhola (Garballo-Rubio, 2018; Lanças, 2010).

A HILIC-MS demonstrou bons resultados em relação à exatidão, sensibilidade e seletividade. Não foram observadas interferências no tempo de retenção da lactose, mostrando que o método foi capaz de distinguir a lactose de outros compostos sem afetar seu desempenho. Os resultados apontaram que várias amostras rotuladas como “zero lactose” apresentaram teores acima de 100 mg/L, padrão definido pela legislação da Espanha. O método apresentou maior qualidade analítica comparada a outros métodos instrumentais, principalmente aqueles em que a presença de interferentes e o preparo de amostras em múltiplas etapas dificultaram a quantificação da lactose em níveis residuais. A seleção de colunas apropriadas juntamente com a escolha de detectores sensíveis assegura uma elevada sensibilidade e confiabilidade do método para análises rotineiras. Isso é crucial, especialmente ao considerar o baixo teor de lactose presente nesses produtos (Garballo-Rubio, 2018).

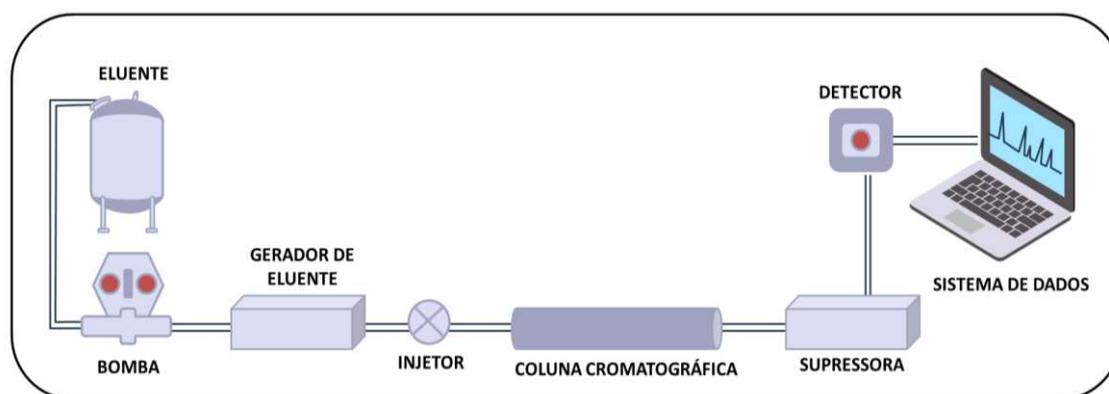
A cromatografia líquida pode ser uma boa escolha analítica para grandes e médias indústrias, pois apresenta opções de colunas e detectores diversificados. Assim, as análises podem ser feitas de acordo com produto analisado, necessidade analítica e investimento. Para laboratórios de análise comercial e de pesquisas, sua versatilidade também pode ser uma vantagem em análises de diferentes matrizes. É considerada como metodologia oficial por órgãos regulatórios. A possibilidade do uso de água ultrapura como reagente é uma vantagem, por estar alinhado aos princípios de sustentabilidade. Suas limitações incluem equipamentos de maior custo, colunas específicas e uso por operador capacitado. O investimento é justificado pela

capacidade de realizar diferentes análises com resultados de alta confiabilidade (Portnoy; Barbano, 2021; Silveira *et al.*, 2015; AOAC International, 2018).

5.1.1.2 Cromatografia iônica

A cromatografia iônica ou *Ion Chromatography* (IC) é o método de análise considerado oficial pelo MAPA. O princípio da técnica se baseia nas interações eletrostáticas entre contra-íons de aminas ligados à fase estacionária com a espécie iônica. Essas interações serão mais fortes quando houver redução da força iônica do tampão e as ligações são determinadas pela força iônica e pelo pH. No caso de carboidratos, esses são considerados ácidos fracos e, quando em meio altamente alcalino, sofrem ionização parcial, podendo ser separados por mecanismos de troca iônica. A ordem de separação dos compostos é de acordo com a carga iônica, o diâmetro do íon e o pH da fase móvel. Essa detecção eletroquímica permite análises de compostos em baixos teores mesmo em matrizes complexas como o leite. Portanto, são técnicas muito compatíveis com a análise de carboidratos. A Figura 7 ilustra o funcionamento de um equipamento de cromatografia iônica (Grönberg, 2018; Brasil, 2022a; Moura; Silva; Gubert, 2022; Van Scheppingen *et al.*, 2017).

Figura 7 - Figura esquemática do funcionamento de um equipamento de cromatografia iônica



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

A técnica de IC mais utilizada para análise de carboidratos é a Cromatografia de Troca Aniônica de Alta Performance com detector de Amperometria Pulsada ou *High Performance Anion Exchange Chromatography - Pulsed Amperometric Detector*

(HPAEC-PAD). Combinado com detectores altamente sensíveis, o método possui capacidade de determinar mais tipos de açúcares com menores volumes de amostra e sem múltiplas etapas de preparo. É um método seletivo e específico para análise de carboidratos, pois a amperometria pulsada é capaz de detectar apenas compostos com grupos químicos funcionais que oxidam com aplicação de tensão elétrica, apresentando maior sensibilidade para carboidratos do que para outros compostos oxidáveis (Rohrer, 2021; Van Scheppingen *et al.*, 2017).

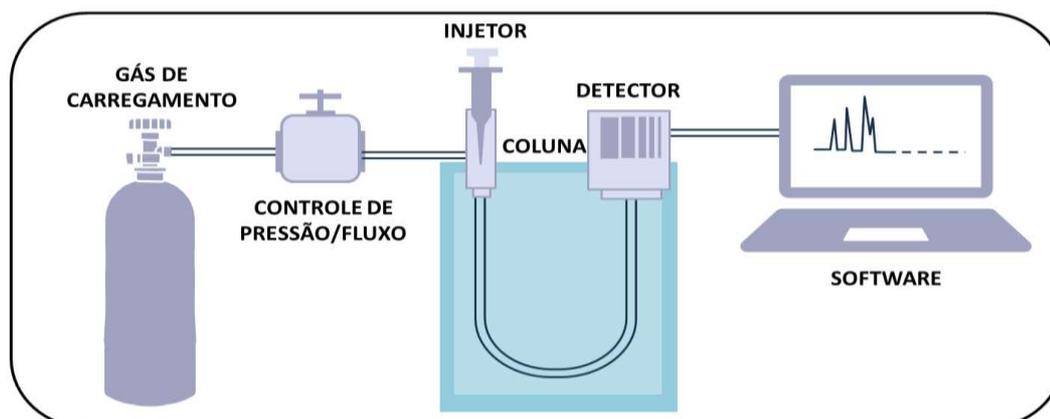
O método HPAEC-PAD também apresentou bons resultados na quantificação da lactose em queijos de maturação longa como o parmesão, permitindo a avaliação do processo de maturação e a identificação de possíveis fraudes em queijos de alto valor agregado como o Grana Padano. Monti e colaboradores (2017) utilizaram o método para comprovar que queijos de longa maturação apresentam teores mínimos de lactose, devido ao uso desta como substrato para a fermentação bacteriana durante o processo de maturação. Essa informação garante a segurança do consumo desses derivados por indivíduos intolerantes e aumenta o leque de opções para uma dieta adequada.

Dessa forma, a cromatografia iônica é considerada uma técnica de alta eficiência de separação, seletiva e eficaz, que possibilita diversas aplicações e apresenta boa velocidade analítica. Entretanto, a principal barreira para sua utilização na rotina de indústrias é o alto custo dos equipamentos, além da necessidade de pessoas capacitadas, colunas específicas para cada tipo de análise e diluição correta durante o preparo de amostras (Grönberg, 2018; Moura; Silva; Gubert, 2022).

5.1.1.3 Cromatografia gasosa

A cromatografia gasosa ou *Gas Chromatography* (GC) é bastante utilizada para análise do teor de lactose em produtos, promovendo a separação dos componentes que se encontram na fase estacionária e na fase móvel gasosa. A amostra inserida é vaporizada e carregada pela fase móvel através da coluna cromatográfica. Os analitos são separados com base na pressão de vapor relativa e no grau de afinidade com a fase estacionária, como mostra a Figura 8 (Idda *et al.*, 2016; IUPAC, 2006; Mcnair; Miller; Snow, 2019).

Figura 8 - Figura esquemática de equipamento de cromatografia gasosa



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

De acordo com o trabalho de Idda e colaboradores (2016), o método de GC apresentou qualidade analítica adequada, sendo capaz de detectar os principais açúcares do leite, mesmo aqueles em valores muito baixos no leite delactosado, como a lactose e o mio-inositol. Além disso, a análise foi feita em uma única corrida, com o intuito de mostrar que a GC pode ser um método vantajoso para uso rotineiro pelo setor de controle de qualidade das indústrias. Os autores constataram que o método tem grande potencial para alcançar níveis de sensibilidade confiáveis na detecção de níveis de lactose residual no leite, sendo de grande utilidade para avaliar os efeitos do tratamento térmico no produto e a qualidade da hidrólise enzimática. Essas vantagens são acompanhadas por um custo analítico reduzido em comparação à métodos que empregam detectores mais dispendiosos como o espectrômetro de massas. Isso poderia tornar o método mais acessível para pequenas indústrias e laboratórios (Idda *et al.*, 2016).

O trabalho de Kučerová e colaboradores (2017) comparou análises por GC e sensores enzimáticos para determinar teores de lactose, glicose e galactose em leite, leite em pó, iogurte e creme de queijo; contrapondo os valores encontrados com os declarados nos rótulos. O método de GC apresentou valores de lactose para amostras de leite em pó menores que os determinados pelos sensores. Para iogurte, os valores encontrados pela GC foram menores do que os valores declarados no rótulo do produto. Para o creme de queijo, o método apresentou valores de acordo com o declarado no rótulo. O método apresentou vantagens comparado aos sensores por

determinar diversos sacarídeos em uma única análise, apresentar menor limite de detecção e maior seletividade.

Montilla, Moreno e Olano (2005) relataram o uso de GC com colunas comerciais como método bastante sensível e seletivo na determinação da lactulose como marcador térmico em amostras de produtos lácteos tratados termicamente como leite pasteurizado, leite UHT, leite esterilizado, leite em pó e bebida achocolatada. O método foi capaz de distinguir a lactose, a lactulose e a sacarose nas amostras. A alta sensibilidade do método foi comprovada ao detectar a lactulose em todas as amostras, mesmo em baixos teores. O método apresentou boa qualidade analítica, além de poder avaliar a intensidade dos tratamentos térmicos aplicados aos produtos. A seletividade do método permitiu análises em alimentos com altos teores de sacarose, como leite condensado e bebidas achocolatadas. Essa elevada capacidade de separação é fundamental na análise de produtos lácteos concentrados e alimentos mistos que contém adição de chocolate e outros ingredientes. Esses componentes adicionais podem dificultar a detecção específica da lactose (Zhang *et al.*, 2010).

A eficiência do método de GC pode variar de acordo com o modo de detecção utilizado, o que pode gerar análises menos precisas e exigir um maior número de corridas analíticas para a detecção de alguns compostos, prolongando assim o tempo necessário. Além disso, é necessário realizar o preparo das amostras para evitar interferências e uso de solventes. Apesar dessas considerações, dentre os métodos cromatográficos, a cromatografia gasosa ainda oferece resultados analíticos satisfatórios e é conhecida por sua facilidade de aquisição e operação (Idda *et al.*, 2016; Trani *et al.*, 2017).

5.1.2 Métodos espectroscópicos

A espectroscopia é o estudo da interação da radiação eletromagnética, produzida pela variação da carga elétrica e campo magnético dos átomos, com um determinado material. Os principais métodos espectroscópicos pelas faixas do infravermelho permitem análises qualitativas e quantitativas de compostos orgânicos. Nessa técnica, a amostra é irradiada com luz infravermelha e as diferentes ligações químicas absorvem a radiação de comprimentos de onda específicos. A absorção é dependente dos átomos presentes no alimento; das ligações entre eles; das moléculas

do ambiente e do tipo de vibração gerado pela absorbância. A faixa espectral do composto é identificada ao ser comparada a um banco de dados. A faixa do IV é subdividida por regiões: o Infravermelho Médio ou *Medium Infrared* (MIR) se encontra entre 2,5 e 15 microns, o Infravermelho Próximo ou *Near Infrared* (NIR) entre 0,8 e 2,5 microns e o Infravermelho Longo ou *Far Infrared* (FIR) entre 15 e 200 microns (Thygesen *et al.*, 2003; Yadav, 2005a; Yadav, 2005b).

De acordo com Portnoy e Barbano (2021), a análise de leite por espectroscopia por MIR se baseia na medição da absorbância dos modos vibracionais específicos da molécula de lactose, como os grupos hidroxila (OH). Como esses grupos não são restritos à lactose, são feitas correções para identificar as absorbâncias de fundo geradas por outros compostos que tenham grupos hidroxila. Além disso, como mais de 80% do leite é composto por água, essa absorve a luz do MIR com muita intensidade e devem ser feitas correções para a concentração de água em cada amostra. O método necessita de calibração com amostras que tenham concentração de lactose conhecida como referência para quantificar a lactose presente nas amostras.

Pinto e colaboradores (2021) relataram que a espectroscopia associada a ferramentas quimiométricas permite que o método obtenha alta capacidade na diferenciação de amostras de leite regular e sem lactose, assim como prever o teor de lactose das amostras. O método utilizado foi a espectroscopia por MIR para determinar o teor de lactose presente em leite sem lactose, através do uso de diferentes faixas de espectro e modelos univariados e multivariados para prever a quantidade de lactose presente nas amostras. Os resultados obtidos foram comparados com o percentual de lactose obtido por HPLC, método considerado oficial. O método apresentou boa precisão e seletividade, com baixo custo, sendo eficaz na diferenciação de amostras de leite regular e sem lactose, sem precisar de preparo de amostras. Com o auxílio de modelagem preditiva, o método obteve resultados muito próximos daqueles gerados por HPLC. Como limitações em relação a outros métodos espectroscópicos, apresenta menor resolução, não permite focalização de planos do interior da amostra e como apontado inicialmente, é um método pouco específico na determinação da lactose.

Já Lei e colaboradores (2010) atingiram bons resultados na identificação dos tipos de carboidratos presentes em diversas marcas de leite em pó através do método de espectroscopia por IV por Transformada de Fourier (FTIR). As informações geradas

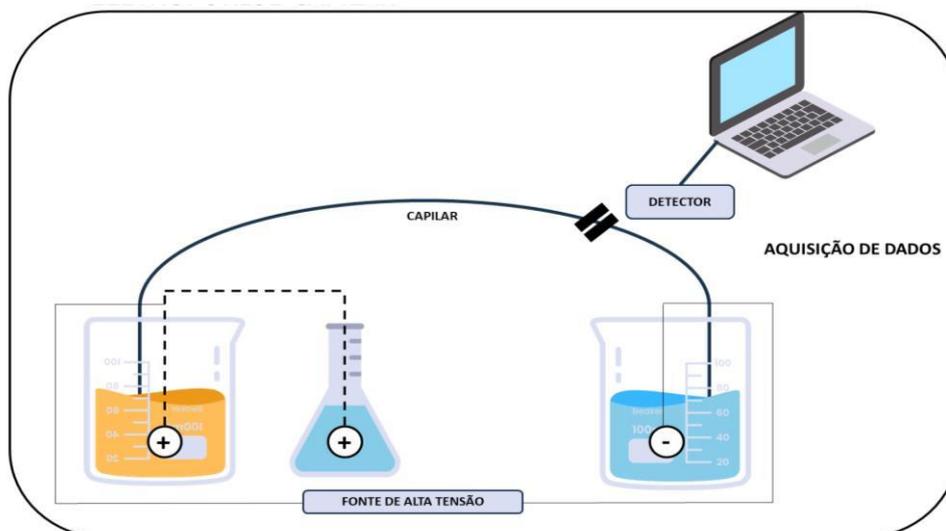
podem auxiliar o consumidor na escolha do produto de acordo com suas necessidades e apresentar um método rápido e não destrutivo para amostras, podendo ser muito útil na avaliação da qualidade de produtos lácteos em pó (Lei *et al.*, 2010; Pinto *et al.*, 2021; Ribeiro *et al.*, 2016; Thygesen *et al.*, 2003).

Apesar de apresentar baixa especificidade para determinação da lactose, a espectroscopia por IV é bastante utilizada em análises de produtos lácteos devido à sua rapidez analítica, menor custo de implementação e capacidade de analisar um grande número de amostras e sem necessidade de reagentes. O método é vantajoso por ser não destrutivo e não requerer preparo de amostras. Em análises de leite e leite em pó, mostrou boa qualidade analítica, mesmo com a presença de outros açúcares além da lactose. No entanto, em produtos como sorvete, doce de leite e leite condensado, a presença de sacarose em maiores concentrações pode prejudicar a qualidade analítica. Estudos com o uso de modelos preditivos mostraram melhora da seletividade do método para análise de leite com lactose hidrolisada. A espectroscopia por IV é uma boa opção analítica para indústrias com menos recursos e produção pouco variada, sendo útil para controle de qualidade e rotulagem (Lei *et al.*, 2010; Pinto *et al.*, 2021; Portnoy; Barbano, 2021).

5.1.3 Métodos de eletromigração

Os métodos de separação por eletromigração se baseiam na diferença da velocidade com que as espécies carregadas eletricamente migram, quando essas se encontram dissolvidas ou suspensas em um eletrólito e aplicada uma corrente elétrica ao sistema. Os métodos eletroforéticos foram sendo aperfeiçoados para maior eficiência com a introdução de colunas capilares e o surgimento da eletroforese capilar. A Eletroforese Capilar ou *Capillary Electrophoresis* (CE) é um método recente na análise de lácteos, apresentando grande potencial na verificação da qualidade de produtos e processos. A Figura 9 mostra o funcionamento da técnica de forma simplificada (Jorgenson; Lukács, 1981; Queiroz; Jardim, 2001; Spudeit; Dolzan; Micke, 2012).

Figura 9 - Figura esquemática do método de eletromigração



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Durante a análise por CE, ocorre a injeção da amostra em colunas capilares de sílica, revestidas por polímeros e preenchidas com uma solução tamponada de eletrólitos. A aplicação de um campo elétrico gera uma corrente no interior do capilar, produzindo a dissociação de grupos silanóis ($-\text{SiOH}$) da superfície capilar que, em contato com o meio aquoso, são ionizados. A superfície interna do capilar é negativamente carregada e produz um fluxo eletrosmótico, gerando a movimentação do analito em direção ao eletrodo de carga oposta, no sentido do detector. Ocorre a produção de sinal analítico, que é enviado ao computador e esse irá gerar o eletroferograma para leitura dos resultados (De Oliveira *et al.*, 2016; Jorgenson; Lukács, 1981; Queiroz; Jardim, 2001; Spudeit; Dolzan; Micke, 2012).

Os avanços da eletroforese para análise de açúcares são apresentados no trabalho de Mantovani e colaboradores (2018). A análise de carboidratos por métodos instrumentais sempre apresentou muitos desafios devido à natureza química desses componentes. Por apresentarem grupos funcionais que não emitem fluorescência e não absorvem luz de diversos espectros, os carboidratos não são detectáveis dependendo do método analítico empregado, e a eletroforese se destaca como uma ferramenta de separação eficiente nesses casos. A CE é considerada uma técnica efetiva para análise da lactose e outros açúcares, apresentando alta resolução, menor tempo requerido para análise e equipamento com automação de alta eficiência. Também necessita de pouco volume de amostras e reagentes e menor necessidade

de lavagens pós-corrida, pois os compostos indesejados podem ser lavados após a análise (Mantovani *et al.*, 2018).

A Eletroforese Capilar de Zona ou *Capillary Zone Electrophoresis* (CZE) é um dos modos operacionais mais simples de CE e tem apresentado resultados significativos ao identificar e quantificar diferentes compostos em lácteos, principalmente proteínas. Laboratórios da União Europeia começaram a utilizar a técnica para garantir a autenticidade do leite e evitar adulterações, através da análise de componentes lácteos proteicos, com o intuito de fortalecer a confiança entre produtores e consumidores (Masci *et al.*, 2022).

Em estudos envolvendo a análise de lactose, Neves e Oliveira (2020a) avaliaram a qualidade analítica da CZE na quantificação da lactose em amostras rotuladas como “sem lactose” e da lactulose como marcador de danos térmicos em leite UHT. Os resultados mostraram que a técnica foi capaz de determinar o teor de cada carboidrato nas amostras, considerando que a lactulose se apresenta em quantidades muito baixas no leite. Em relação ao tempo de análise, o método HPLC apresentou maior tempo e consumo de reagentes em comparação à CZE, mostrando a maior eficiência do último (Neves; De Oliveira, 2020a; Silveira *et al.*, 2015).

Dessa forma, o método de CZE pode ser muito eficiente para a análise tanto da lactose quanto de outros açúcares de forma simultânea, além de fácil operação e preparo de amostras, apresentando grande potencial na utilização de forma rotineira pelas indústrias e laboratórios. Dentre as limitações destaca-se o custo de aquisição e implementação de equipamentos e capacitação dos operadores (Neves; De Oliveira, 2020a; Neves; De Oliveira, 2020b; Neves; De Oliveira, 2021; Queiroz; Jardim, 2001; Spudeit; Dolzan; Micke, 2012).

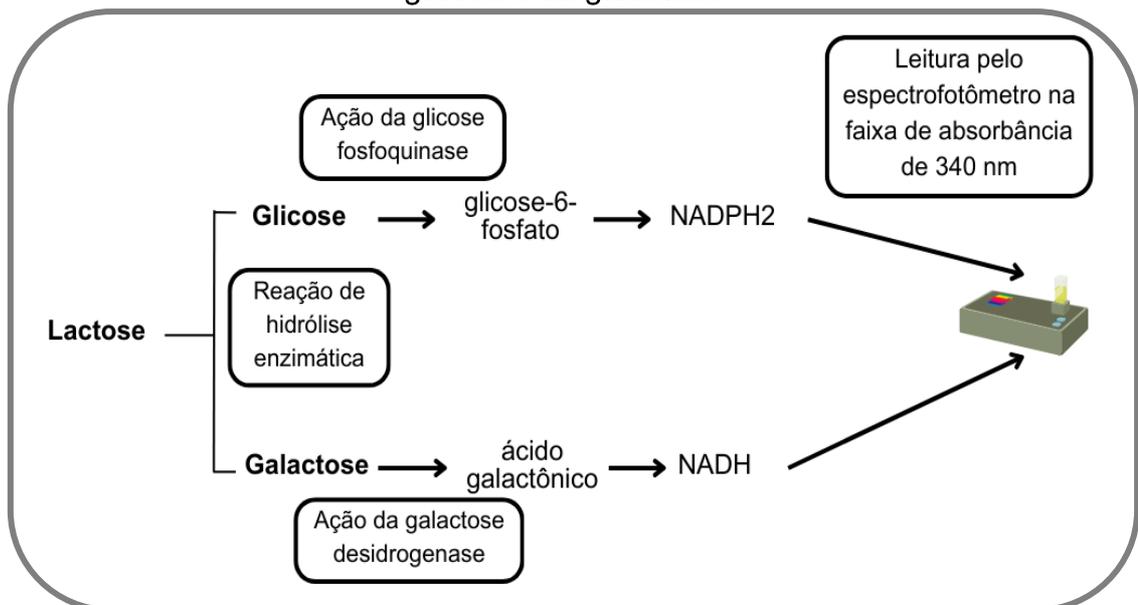
5.1.4 Métodos enzimáticos

Os métodos enzimáticos são considerados oficiais de acordo com o MAPA e a AOAC Internacional, associando métodos de detecção e ensaios enzimáticos. Nessa revisão, os métodos enzimáticos foram considerados instrumentais, pois as propriedades físicas dos analitos são medidas após as reações enzimáticas aplicadas à lactose (Passos, 2011).

Esses métodos podem ser realizados pela aquisição de kits comerciais ou realizados em laboratórios. Outras reações enzimáticas ocorrem sobre esses monossacarídeos, produzindo compostos que são detectados e lidos pelos equipamentos. Os principais métodos enzimáticos utilizados são por leitura por espectrofotométrica e por diferença de pH (potencial Hidrogeniônico) (Da Silva *et al.*, 2020; Mustranta; Östman, 1997; Trani *et al.*, 2017).

O método enzimático com detecção por espectrofotometria é apresentado na Figura 10. Após hidrólise da lactose, ocorrem reações enzimáticas por vias distintas, pela glicose ou pela galactose. Na via da galactose, ocorre a ação enzimática da galactose desidrogenase sobre a molécula de galactose, levando à formação de ácido galactônico e da coenzima NAD (Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina). A forma reduzida da NAD absorve radiação na faixa de espectro de 340 nm e é relacionada de forma indireta com o teor de lactose da amostra. Para a via da glicose, ocorre a ação da glicose fosfoquinase, formando glicose-6-fosfato, que é oxidada pela NADPH (Fosfato de Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina) gerando ao final a forma reduzida NADPH 2, que é medida por espectrofotometria da mesma forma (Da Silva *et al.*, 2020; Mustranta; Östman, 1997; Trani *et al.*, 2017).

Figura 10 - Representação do método enzimático por espectrofotometria pela via da glicose e da galactose



Fonte: Adaptado de Da Silva *et al.* (2020) e Trani *et al.* (2017).

Já o método enzimático cuja leitura é realizada por diferença de pH é similar ao primeiro, em que a lactose é hidrolisada em glicose e galactose. A glicose sofre ação de enzimas específicas e forma os compostos D-glicose-6-P, ADP, além de prótons. A formação de prótons altera o pH da solução, que permite determinar a concentração de H^+ e calcular a concentração da glicose e conseqüentemente da lactose. Os resultados podem ser expressos relacionando a mudança de pH com a concentração de lactose presente na amostra e comparando ao padrão de lactose pura (IDF, 2010; Portnoy; Barbano, 2021).

Ambos os métodos possuem boa especificidade para análise da lactose e não necessitam de curva padrão com amostra de referência. Os pontos críticos dos métodos enzimáticos são a calibração do equipamento de forma correta e com lactose de alta pureza e cálculos estequiométricos realizados de forma precisa, evitando a ocorrência de erros associados. São métodos vantajosos quando é necessário rapidez, baixo custo e praticidade nas análises e podem ser uma boa opção analítica para pequenas e médias indústrias (Da Silva *et al.*, 2020; Mangan *et al.*, 2019; Mustranta; Östman, 1997; Portnoy; Barbano, 2021; Trani *et al.*, 2017).

O estudo de Churakova e colaboradores (2019) analisou diferentes kits enzimáticos em amostras de leite em comparação ao método de cromatografia iônica. O método HPAEC-PAD apresentou maior acurácia na detecção de lactose em amostras de leite com baixo teor, pois os kits tendem a superestimar concentração de lactose. Trani e colaboradores (2017) afirmaram que os métodos enzimáticos comparados ao método de HPLC não apresentaram resultados adequados na determinação da lactose em produtos hidrolisados. A diferença entre os valores calculados e esperados variou de 5 a 30% e quanto menores as concentrações de lactose, essa variabilidade tende a aumentar. Mesmo com preparações de amostra e diluições distintas, os métodos enzimáticos não foram capazes de detectar a lactose de forma adequada. Os métodos enzimáticos superestimaram a concentração dos carboidratos das amostras: as marcas analisadas continham, de acordo com o rótulo, a concentração de lactose de 49 g/L e os resultados obtidos pelos kits enzimáticos foram, em média, 51 g/L.

Os métodos enzimáticos possuem a desvantagem de serem mais expostos à erros por dependerem de reações bioquímicas. No entanto, os kits comerciais apresentam praticidade e podem ser utilizados para determinar a concentração da

lactose em produtos lácteos que não tenham lactose hidrolisada. Métodos enzimáticos mais eficientes estão sendo desenvolvidos, como mostra o estudo de Mangan e colaboradores (2019), que apresentou um novo método capaz de detectar níveis mínimos de lactose em amostras de fórmulas infantis sem lactose. O método enzimático foi comparado ao método HPAEC-PAD e apresentou resultados significativos em relação à rapidez e robustez analítica. Apesar do método de cromatografia apresentar maior precisão nas análises, o ensaio enzimático proposto é uma opção com bom custo-benefício, rápida e sem necessidade de treinamento de pessoas e aquisição de equipamentos de alto custo (Churakova *et al.*, 2019).

5.1.5 Sensores eletroquímicos

Para além dos métodos instrumentais mais conhecidos, a utilização de sensores eletroquímicos para determinação da lactose têm sido objeto de estudos recentes, em decorrência da sua alta sensibilidade à pequenas mudanças de concentração de analitos. Os sensores possuem boa versatilidade ao utilizar diferentes eletrodos e reações enzimáticas de acordo com a amostra e o tipo de análise desejada. São considerados equipamentos de baixo custo, portáteis e automação simples, pela facilidade de montagem e operação. O baixo limite de detecção e alta confiabilidade refletem sua qualidade analítica (Gursoy *et al.*, 2020; Ramya; Muthukumaran; Wilson, 2018).

De forma Gursoy e colaboradores (2020) desenvolveram um novo biossensor com uso do co-polímero 3,4-etilenodioxitiofeno/tiofeno, com as enzimas lactase e galactose-oxidase utilizadas no co-polímero para anexá-los ao eletrodo. O método apresentou boa reprodutibilidade e tempo rápido de resposta com uso do co-polímero, sendo uma opção de menor custo, maior rapidez e facilidade na determinação da lactose. Além disso, o biossensor não sofreu interferência significativa de componentes do leite como ácido ascórbico e úrico, interferentes relevantes durante a análise de lactose.

O trabalho de Brito e colaboradores (2021) apresentou um biossensor a partir da imobilização da lactase em uma pasta base contendo pasta de carbono e matriz de nanotubos de carbono, que foi depositada no eletrodo. O biossensor foi utilizado para detecção da lactose em amostras de leite desnatado e mostrou boa sensibilidade,

estabilidade e reprodutibilidade, com limite de detecção de 0,15 mmol/L. O método pode ser uma alternativa analítica para monitorização do teor de lactose de forma rápida e confiável na produção de lácteos.

Wu (2023) apresentou um sensor eletroquímico baseado em líquido iônico modificado e brometo de 3-amina-N-[3-(N-pirrole)propil]imidazol para detecção de lactose em produtos lácteos. O sensor fez uso da enzima cellobiose desidrogenase para a oxidação da lactose. Esse método mostrou ser possível fazer análise da lactose sem etapas de preparação de amostra, de forma rápida e *in loco*, por ser um equipamento portátil, podendo ser utilizado em tempo real dentro do ambiente industrial. O sensor apresentou acurácia e repetibilidade para análise de lactose equiparáveis à métodos usuais como HPLC, o que corrobora sua potencialidade na indústria de laticínios atual.

5.2 Comparativo dos métodos analíticos instrumentais selecionados para a revisão

Os métodos analíticos instrumentais têm sido utilizados de forma mais extensa nos últimos anos, considerando as inovações tecnológicas que o setor industrial vem passando. A Tabela 3 resume as informações a respeito dos aspectos comparados, destacando as vantagens e limitações dos métodos selecionados. Os métodos foram verificados em relação a tipos de equipamentos, necessidade de operadores treinados, geração de resíduos e necessidade de preparo da amostra.

Tabela 3 - Comparativo entre métodos instrumentais para análise da lactose

Método	Vantagens	Limitações	Referência
Enzimático	Fácil aquisição Baixo custo Operacional simples Rapidez de análise	Preparo da amostra; Calibração com padrão de alta pureza; Baixo limite de detecção; Sujeito à erros;	Da Silva <i>et al.</i> , 2020 Portnoy; Barbano, 2021 Churakova <i>et al.</i> , 2019 Mangan <i>et al.</i> , 2019
Cromatografia gasosa	Fácil aquisição e menor custo Resultados analíticos adequados	Preparo da amostra; Colunas específicas Operador capacitado; Análise menos precisa Maior tempo de análise	Idda <i>et al.</i> , 2016 Kučerová <i>et al.</i> , 2017 Mcnair; Miller; Snow, 2019
Cromatografia iônica	Alta seletividade e especificidade; Método oficial	Diluição correta da amostra Operador capacitado Alto custo de equipamentos	Moura; Silva; Gubert, 2022 Brasil, 2022a
Cromatografia líquida	Preparo simples de amostra Versatilidade de equipamentos Alta seletividade e especificidade Opções de acordo com a Química Verde Método oficial	Alto custo de implementação Operador capacitado Uso de colunas específicas Uso de padrão	Portnoy; Barbano, 2021 Silveira <i>et al.</i> , 2015

Espectroscopia por IV	Operacional simples; Baixo custo Boa precisão e seletividade Fácil preparo de amostra Método não destrutivo	Maior tempo de análise Necessita de comparativo com banco de dados Menor resolução	Thygesen <i>et al.</i> , 2003 Pinto <i>et al.</i> , 2021 Lei <i>et al.</i> , 2010 Portnoy; Barbano, 2021
Eletroforese capilar	Pouco volume de amostra e reagentes Preparo simples de amostra Sem geração de resíduos tóxicos; Menor tempo de análise	Alto custo de implementação do equipamento Operador capacitado Uso de padrão	De Oliveira <i>et al.</i> , 2016 Neves; De Oliveira, 2020a, 2020b

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Em relação à confiabilidade do método, os parâmetros analíticos são informações importantes para avaliar a qualidade da análise e dos resultados obtidos. A Tabela 4 mostra um comparativo entre os métodos cromatográficos, de acordo com esses parâmetros.

Tabela 4 – Comparativo dos parâmetros analíticos entre métodos cromatográficos

Método	Amostra	LOD* (mg/L ou Kg)	LOQ* (mg/L ou Kg)	Referência
HPLC-RI	Leite regular	50	150	Acquaro Jr. <i>et al.</i> , 2013 Gonzaga <i>et al.</i> , 2019
		600	1800	
HPLC-MS	Leite sem lactose	0,05	0,15	Trani <i>et al.</i> , 2017
HILIC-MS	Leite sem lactose	5	15	Garballo-Rubio, 2018
HPAEC-PAD	Leite sem lactose		10	Van Scheppingen <i>et al.</i> , 2017 Monti <i>et al.</i> , 2017
	logurte Queijo Gouda Creme de chocolate e avelã Queijo Parmesão	2,5	4,1	
GC	Leite Leite UHT Leite UHT sem lactose logurte Creme de queijo	0,45	1,4	Idda <i>et al.</i> , 2016 Montilla, Moreno e Olano, 2005

*

*Valores médios encontrados

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Os trabalhos apresentaram, em sua maioria, métodos para análise de produtos com lactose hidrolisada. Isso vai ao encontro da tendência atual de produtos reduzidos

e isentos em lactose e a necessidade de um maior controle regulatório da composição nutricional dos produtos lácteos. São produtos que podem apresentar níveis extremamente baixos de lactose, e por isso a utilização de métodos mais sensíveis e seletivos é a melhor escolha para resultados de alta confiabilidade.

O método HPLC-RI apresentou menor sensibilidade na detecção de lactose, com maiores limites de detecção e quantificação. O detector de Índice de Refração é menos preciso em relação ao de espectrometria de massas (MS), apresentando menor qualidade analítica. No trabalho de Gonzaga e colaboradores (2019) o método HPLC-RI obteve LOD de 600 mg/L e LOQ de 1800 mg/L. Já Acquaro Jr. e colaboradores (2013) obtiveram resultados de LOD e LOQ de 50 mg/L e 150 mg/L, respectivamente. Pode-se inferir que a diferença entre os valores se deve à utilização de água ultrapura em diferentes etapas da análise cromatográfica, como no preparo de amostra e durante a separação de componentes, assim como a possível utilização de diferentes tipos de colunas de separação (Garballo-Rubio, 2018; Gonzaga *et al.*, 2019; Trani *et al.*, 2017).

O método de HILIC-MS demonstrou bons resultados em relação à exatidão, sensibilidade e seletividade. Não foram observadas interferências no tempo de retenção da lactose, mostrando que o método foi capaz de distinguir a lactose de outros compostos sem afetar seu desempenho. O LOD apresentado foi de 5 mg/L e LOQ de 15 mg/L, dentro do esperado para o tipo de amostra. O método apresentou maiores valores de LOD e LOQ, porém dentro do previsto pelos autores (Garballo-Rubio, 2018).

De acordo com os resultados encontrados, observou-se que método HPLC-MS foi o que apresentou os melhores parâmetros analíticos, com valores para LOD de 0,05 mg/L e LOQ de 0,15 mg/L para lactose e níveis de precisão e exatidão de acordo com os estipulados pela AOAC. O LOD e LOQ apresentados pelo método foram menores em amostras de leite sem lactose, demonstrando a alta sensibilidade para compostos em baixos teores. A detecção por espectrometria de massa é uma adição vantajosa, por aumentar a seletividade e sensibilidade do método, pois o espectro de massa de cada composto é único, gerando resolução de alta qualidade e detecção precisa (Ali, 2022; Trani *et al.*, 2017).

Em relação ao método HPAEC-PAD, o trabalho de Van Scheppingen e colaboradores (2017) expôs a alta seletividade que o método apresentou para

detecção da lactose em diversos produtos com baixo teor de lactose. Durante a fabricação desses produtos, diferentes açúcares são formados e/ou adicionados, podendo interferir nas análises, pois outros compostos podem ser detectados junto com a lactose. Todos os produtos analisados apresentaram teor de lactose inferior a 0,1% (m/m), de acordo com as informações do rótulo dos produtos denominados “sem lactose”. O método obteve bons resultados em relação ao LOQ, que foi de 10 mg/kg, incluindo produtos como queijo Gouda e creme de chocolate e avelã, que apresentaram valores abaixo desse limite. Evidencia-se a análise de amostras de creme de chocolate e avelã, pois é um produto que leva adição de sacarose e glicose. A análise não apresentou interferências, mostrando a seletividade do método para a lactose. O uso de detector de amperometria pulsada otimizou o processo, por sua alta seletividade para análise de carboidratos (Monti *et al.*, 2017).

O trabalho de Idda e colaboradores (2016) avaliou o método de GC para determinar lactose, glicose, galactose, tagatose e mio-inositol em amostras de leite UHT regulares e sem lactose. Para lactose, o valor de LOD apresentado foi de 0,45 mg/L e LOQ de 1,4 mg/L. As amostras de leite sem lactose apresentaram valores abaixo do limite de detecção, mostrando a alta sensibilidade do método. O método apresentou capacidade para análises de diferentes matrizes lácteas, apresentando limites de detecção adequados para amostras com e sem lactose. Para obtenção de uma melhor qualidade analítica e considerando menor custo entre os métodos cromatográficos, o GC mostrou-se como boa opção analítica.

O trabalho de revisão de Rao e colaboradores (2021) comparou métodos cromatográficos em relação à análise de produtos lácteos com baixo teor e sem lactose. A propensão para análise de produtos com lactose hidrolisada demonstra a relevância da alta sensibilidade, seletividade e rapidez analítica do método, de acordo com os resultados discutidos nesta revisão. A resolução e a confiabilidade dos resultados dependem do tipo de coluna de separação e dos detectores empregados. O emprego de detectores mais sensíveis tem se destacado como a melhor alternativa para análises cromatográficas. Os autores concluíram que os métodos HPLC-MS e HPAEC-PAD apresentaram os melhores resultados para produtos com teores residuais de lactose, por apresentarem menores limites de detecção.

A principal barreira para utilização dos métodos cromatográficas é o alto custo de equipamentos, o que dificulta a aplicação em larga escala. O maior tempo de

análise, necessidade de operadores qualificados e geração de grande volume de resíduos também são aspectos limitantes. O desenvolvimento de tipos de detectores e aparatos mais simples e versáteis devem ser vistos como possibilidades para a redução de custos e maior interesse das empresas por essas metodologias (Da Silva *et al.*, 2020; Rao *et al.*, 2021).

6 CONCLUSÃO

O leite possui grande importância na saúde e na alimentação, apresentando grande impacto no cenário econômico atual. Dessa forma, o controle da qualidade do leite e seus derivados é dependente de resultados confiáveis, obtidos por metodologias adequadas e eficientes. Conhecer e entender as técnicas analíticas permite que a indústria e a pesquisa brasileiras alcancem níveis compatíveis com as exigências internacionais. Adicionalmente, essa revisão pode dar suporte para a escolha do método mais adequado para a análise requerida, garantindo a segurança do produto frente ao mercado consumidor e às exigências dos órgãos fiscalizadores.

O presente trabalho de revisão pretendeu comparar as vantagens, limitações e parâmetros analíticos mais consideráveis entre os principais métodos instrumentais para análise da lactose como auxílio na escolha da metodologia adequada para diferentes derivados lácteos e de acordo com a necessidade e porte da empresa, incluindo pequenas produções, grandes indústrias, além de laboratórios comerciais e de pesquisa. No entanto, o alto custo que envolve os equipamentos, por serem importados de outros países e a necessidade de operação e assistência técnica especializadas são as principais barreiras para que sua utilização seja mais comum no meio industrial e científico. O Brasil deveria fazer maiores investimentos em tecnologia para que esses equipamentos possam ser adquiridos com maior facilidade e se tornem rotina na análise de alimentos.

São necessários mais estudos para definir métodos de detecção e quantificação da lactose específicos para cada produto lácteo, além de eficazes, confiáveis e de menor custo. Um possível caminho a ser seguido seria a convergência de kits e sensores com tecnologias analíticas de alta sensibilidade para permitir o uso de métodos mais precisos pelas indústrias, como os métodos enzimáticos e eletroquímicos. Diversos métodos de detecção de antibióticos e de alguns

componentes lácteos já apresentaram limitações como longo tempo de análise e instrumental mais complexo e atualmente apresentam fácil aquisição e execução. A evolução e a acessibilidade de tecnologias analíticas são necessárias para a qualidade e segurança dos produtos lácteos, atendendo às demandas dos consumidores e da fiscalização.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACQUARO JR. V. R. *et al.* Desenvolvimento e validação de método para extração e quantificação através de HPLC com índice de refração para lactose em leite pasteurizado. **Scientia Chromatographica**, v.5, n. 2, p. 137-145, 2013.

AGENCIA ESPAÑOLA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA Y NUTRICIÓN (AESAN). **Condiciones de empleo de las menciones “sin lactosa” y “bajo contenido en lactosa”**, 2019.

ALI, A. H. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): a review. **Annals of Advanced Chemistry**, v. 6, p. 10-20, 2022.

AMORIM, A. F. V. **Química: Métodos cromatográficos**. 1. ed. Fortaleza: Editora da Universidade Estadual do Ceará, 2019. p. 9-19.

ARYAL, S. HPLC: principle, parts, types, uses, diagram. **Microbe Notes**, 2023. Disponível em: <https://microbenotes.com/high-performance-liquid-chromatography-hplc/>

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO (ABIQ). **Produção mundial de leite cresce pouco, inclusive a brasileira**. Disponível em: <https://www.abiq.com.br/producao-mundial-de-leite-cresce-pouco-inclusive-a-brasileira/>. Acesso em: 30 jan. 2024.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL COLLABORATION INTERNATIONAL (AOAC). **Standard Method Performance Requirements (SMPRs®) for lactose in low-lactose or lactose free milk, milk products, and products containing dairy ingredients**, AOAC International, 2018.

BARALDI, J.; ROCHA, M. S. Metodologia para análise de amostras “zero lactose” por HPLC. **Revista Acadêmica Oswaldo Cruz**, v. 5, n. 18, abr.-jun. 2018.

BRASIL. Decreto nº 10.468, de 18 de agosto de 2020. Altera o Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, que regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 159, p. 5, 19 ago. 2020b.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. Instrução Normativa - IN nº 30, de 25 de junho de 2018. Ficam estabelecidos como oficiais os métodos constantes do Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**: Seção 1, Brasília, DF, p. 9, 13 jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal**. 1 ed. Brasília, 2022a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instrução Normativa - IN n° 75, de 8 de outubro de 2020. Estabelece os requisitos técnicos para declaração da rotulagem nutricional nos alimentos embalados. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 195, p. 113, 09 out. 2020a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n° 715, de 1° de julho de 2022. Dispõe sobre os requisitos do sal hipossódico, dos alimentos para controle de peso, dos alimentos para dietas com restrição de nutrientes e dos alimentos para dietas de ingestão controlada de açúcares. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 126, p. 186, 06 jul. 2022b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução Da Diretoria Colegiada - RDC n° 727, de 1° de julho de 2022. Dispõe sobre a rotulagem dos alimentos embalados. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 126, p. 213, 06 jul. 2022c.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada - RDC n° 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 141, p. 87, 25 jul. 2017.

BRITO, A.R. de; JESUS, R.S. de; TAVARES, I.M.C.; SILVA, F.N.; SANTANA, N.B.; FERRÃO, S.P.B.; MUHAMMAD, B.; SANTOS, A.S.; SALAY, L.C.; OLIVEIRA, J.R. de; FRANCO, M. (2021). Application of the electrochemical biosensor in the detection of lactose in skimmed milk. **Surfaces and Interfaces**, v. 22, n. 100839, 2021.

CANANI, R. B. *et al.* Diagnosing and treating intolerance to carbohydrates in children. **Nutrients**, v. 8, n. 157, 2016.

CATANZARO, R.; SCIUTO, M.; MAROTTA, F. Lactose intolerance: an update on its pathogenesis, diagnosis, and treatment. **Nutrition Research**, v. 89, p. 23-34, mai. 2021.

CHARLTON, S. *et al.* New insights into Neolithic milk consumption through proteomic analysis of dental calculus. **Archaeological and Anthropological Sciences**, v. 11, p. 6183–6196, set. 2019.

CHURAKOVA, E. *et al.* Accurate analysis of residual lactose in low-lactose milk: comparing a variety of analytical techniques. **International Dairy Journal**, v. 196, p. 126-131, 2019.

COSTA, A. *et al.* Milk lactose - Current status and future challenges in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 7, p. 5883-5898, jul. 2019.

COSTA, C. J. M. *et al.* Lactose quantification in UHT milk by high-performance liquid chromatography and cryoscopy (freezing point depression). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. 1-8, nov. 2021.

CURRY, A. The milk revolution: when a single genetic mutation first let ancient Europeans drink milk, it set the stage for a continental upheaval. **Nature**, v. 500, p. 20-22, ago. 2013.

DA SILVA, K. C. M. *et al.* Determinação da lactose ante às metodologias contemporâneas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 75, n. 1, p. 59–71, 2020.

DANTAS, H. L. L. *et al.* Como elaborar uma revisão integrativa: sistematização do método científico. **Revista Recien.**, São Paulo, v. 12, n. 37, p. 334-345, 2021.

DANZER, K. Analytical chemistry: today's definition and interpretation. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v. 343, p. 827-828, fev. 1992.

DE OLIVEIRA, M. A. L. *et al.* Analysis of amino acids, proteins, carbohydrates and lipids in food by capillary electromigration methods: a review. **Analytical Methods**, v. 8, p. 3649-3680, 2016.

DI COSTANZO, M.; CANANI, R. B. Lactose intolerance: common misunderstandings. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 73, p. 30-37, 2018.

disaccharides in milk: Method assessment, validation and application to real samples. **Journal of Separation Science**, v. 39, n. 23, p. 4577-4584, dez. 2016.

DOMINICI, S. *et al.* Lactose: characteristics, food and drug-related applications, and its possible substitutions in meeting the needs of people with lactose intolerance. **Foods**, v. 11, n. 1486, p. 1-18, 2022.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). Scientific opinion on lactose thresholds in lactose intolerance and galactosaemia. **EFSA Journal**, v. 8, n. 9, p. 1-29, 2010.

FACIONI, M. S. *et al.* Nutritional management of lactose intolerance: the importance of diet and food labelling. **Journal of Translational Medicine**, v. 18, n. 260, p.1-9, 2020.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Dairy Market Review**: emerging trends and outlook. Roma, 2022

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Gateway to dairy production and products**. Roma, 2018.

FOOD SAFETY AND STANDARDS AUTHORITY OF INDIA (FSSAI). **Food Safety and Standards (Food Products Standards and Food Additives) Regulations**. Version-XXVI, 2022.

FOOD STANDARDS AGENCY (FSA). **Understanding of Food Labelling Terms Used to Indicate the Absence or Reduction of Lactose, Milk or Dairy**. p. 81-89, 2010.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. **Dairy chemistry and biochemistry**. Londres: Blackie Academic & Professional, 1. ed., 1998. 478 p.

FRANCISQUINI, J. d'A. *et al.* Reação de Maillard: uma revisão. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, v. 72, n. 1, p. 48-57, 2017.

GÄNZLE, M. G.; HAASE, G.; JELEN, P. Lactose: Crystallization, hydrolysis and value-added derivatives. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 685–694, 2008.

GARBALLO-RUBIO, A. *et al.* Determination of residual lactose in lactose-free cow milk by hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) coupled to tandem mass spectrometry. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 66, p. 39-45, mar. 2018.

GIL, A.; ORTEGA, R. M. Introduction and executive summary of the supplement, role of milk and dairy products in health and prevention of noncommunicable chronic diseases: a series of systematic reviews. **Adv. Nutr.**, v. 10, p. 67–73, 2019.

GOFF, H. D.; HARTEL, R. W. **Ice Cream**. 7. ed. Nova York: Springer Science + Business Media, 2013. 462 p.

GONZAGA, N. *et al.* Green method using water for lactose and lactulose extraction and determination in milk by high-performance liquid chromatography with refractive index detection. **LWT**, v. 113, n. 108288, p. 1-6, 2019.

GRÖNBERG, A. Chapter 18 - Ion Exchange Chromatography. *In*: JAGSCHIES, G. *et al.* **Biopharmaceutical processing**: development, design, and implementation of manufacturing processes. Elsevier, 2018. p. 379-399.

GURSOY, S. *et al.* A novel lactose biosensor based on electrochemically synthesized 3,4-ethylenedioxythiophene/thiophene (EDOT/Th) copolymer. **Open Chemistry**, v. 18, n. 1, p. 974-985, 2020.

GUTIÉRREZ-MÉNDEZ, N. **Lactose and lactose derivatives**. Norderstedt: Books on Demand, 2020. 104 p.

HEANEY, R. P. Dairy intake, dietary adequacy, and lactose intolerance. **Adv. Nutr.**, v. 4, p. 151–156, 2013.

HETTINGA, K. A. Lactose in the dairy production chain. *In*: PAQUES, M.; LINDNER, C. **Lactose: evolutionary role, health effects, and application**. Academic Press, 2019. p. 232-266.

HODGES, J. K. *et al.* Lactose intolerance and bone health: the challenge

HORNE, D. S. Características do leite. *In*: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema**. 5 ed., Porto Alegre: Artmed Editora Ltda., 2019.

IDDA, I. *et al.* Gas chromatography analysis of major free mono- and
INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA
(INMETRO). **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. Revisão 9.
Brasília: Ministério do Desenvolvimento, Indústria, Comércio e Serviços, 2020.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. ISO 22662 | IDF 198: 2024. **Milk and milk products - Determination of lactose content by high-performance liquid chromatography (reference method)**. Disponível em: <https://shop.fil-idf.org/products/iso-22662-idf-198-2024-milk-and-milk-products-determination-of-lactose-content-by-high-performance-liquid-chromatography-reference-method>. Acesso em: 15 abr. 2024.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. ISO 26462/IDF 2014:2010. **Milk - Determination of lactose content - Enzymatic method using difference in pH**. Disponível em: <https://shop.fil-idf.org/products/milk-determination-of-lactose-content-enzymatic-method-using-difference-in-ph>. Acesso em: 02 fev. 2024.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). **Determination of lactose content by high-performance liquid chromatography (Reference method) ISO 22662:2007 | IDF 198:2007**. Bruxelas: International Dairy Federation, 2007.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY (IUPAC). **IUPAC Compendium of Chemical Terminology: gas chromatography**, 3. ed. Online version 2019.

JORGENSON, J. W.; LUKACS, K. D. A. Zone Electrophoresis in Open-Tubular Glass Capillaries. **Analytical Chemistry**, v. 53, n. 8, p. 1298–1302, 1981.

KARAKAN, T.; TUOHY, K.M.; JANSSEN-VAN SOLINGEN, G. Low-dose lactulose as a prebiotic for improved gut health and enhanced mineral absorption. **Frontiers in Nutrition**, v. 8, n. 672925, jul. 2021.

KUČEROVÁ, P., *et al.* Determination of lactose in milk products: a comparison of three-enzyme amperometric biosensor and gas chromatography/tandem mass spectrometry. **Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly**, v. 148, p. 517-524, 2017.

- LANÇAS, F. M. Cromatografia Líquida Com Interação Hidrofílica (HILIC). **Scientia Chromatographica**, v. 2, n. 1, p. 49-57, 2010.
- LEI, Y. *et al.* Analysis of crystallized lactose in milk powder by Fourier-transform infrared spectroscopy combined with two-dimensional correlation infrared spectroscopy. **Journal of Molecular Structure**, n. 974, p. 88-93, 2010.
- LULE, V. K. *et al.* Food intolerance: lactose tolerance. *In*: CABALERRO, B.; FINGLAS, P. M.; TOLDRÁ, F. **Encyclopedia of Food and Health**. Amsterdam: Elsevier, 2016. p. 43-48.
- MAIOCHI, R. R.; RODRIGUES, R. G. A.; WOSIACKI, S. R. Principais métodos de detecção de mastites clínicas e subclínicas de bovinos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, p. 1237-1251, 2019.
- MANGAN, D. *et al.* A novel enzymatic method for the measurement of lactose in lactose-free products. **J. Sci. Food Agric.**, v. 99, n. 2, p. 947–956, 2019.
- MANTOVANI, V *et al.* Recent advances in capillary electrophoresis separation of monosaccharides, oligosaccharides, and polysaccharides. **Electrophoresis**, v. 39, n.1, p. 179-189, 2018.
- MANZI, P., PIZZOFERRATO, L. HPLC determination of lactulose in heat treated milk. **Food Bioprocess Technol.**, v. 6, p. 851–857, 2013.
- MASCI, M. *et al.* Authenticity assessment of dairy products by capillary electrophoresis. **Electrophoresis**, v. 43, n. 1–2, p. 340–354, 2022.
- MCNAIR, H. M.; MILLER, J. M.; SNOW, N. H. **Basic Gas Chromatography**. Nova Iorque: John Wiley & Sons, Inc., 2019.
- MCSWEENEY P.; FOX, P. F. **Advanced Dairy Chemistry: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents**. 3. ed. Nova Iorque: Springer New York, 778 p., 2009.
- MENDES, K. D. S; SILVEIRA R. C. C. P; GALVÃO C. M. Revisão integrativa: método de pesquisa para a incorporação de evidências na saúde e na enfermagem. **Texto Contexto Enferm.**, Florianópolis, v. 17, n. 4, p. 758-764, 2008.
- MESÍAS, M.; DELGADO-ANDRADE, C. Melanoidins as a potential functional food ingredient. **Current Opinion in Food Science**, v. 14, p. 37-42, abr. 2017.
- MONTI, L. *et al.* Lactose, galactose and glucose determination in naturally “lactose free” hard cheese: HPAEC-PAD method validation. **Food Chemistry**, v. 220, p. 18-24, 2017.

MOURA, A. V.; DA SILVA, J. D. S.; GUBERT, P. Ion Chromatography: Principles and Instrumentation. **Orbital: Electron. J. Chem.**, v. 2, n. 14, p. 110-115, jul. 2022.

MUSTRANTA, A.; ÖSTMAN, C. Enzymatic Determination of Lactose and Galactose in Foods: NMKL 1 Collaborative Methods Performance Study. **Journal of AOAC International**, v. 80, n. 3, p. 584–590, 1997.

NEVES, L. N. O. *et al.* Lactulose determination in UHT milk by CZE-UV with indirect detection. **Food Chemistry**, v. 258, p. 337–342, 2018.

NEVES, L. N. O.; DA SILVA, P. H. F.; DE OLIVEIRA, M. A. L. Determinação espectrofotométrica de WPNI e HMF em leite UHT através da análise por componentes principais. **Química Nova**, v. 39, n. 6, p. 741–747, 2016.

NEVES, L. N. O.; DE OLIVEIRA, M. A. L. Corrigendum to “Quantification of lactose and lactulose in hydrolysed-lactose UHT milk using capillary zone electrophoresis” [International Dairy Journal 106 (2020)]. **International Dairy Journal**, v. 113, n. 104891, p. 2021.

NEVES, L. N. O.; DE OLIVEIRA, M. A. L. Determination of lactose and lactulose isomers in UHT milk by CZE-UV. **LWT**, v. 118, n. 108766, p. 15–18, 2020a.

NEVES, L. N. O.; DE OLIVEIRA, M. A. L. Effects of enzymatic lactose hydrolysis on thermal markers in lactose-free UHT milk. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 9, p. 3518–3524, 2020b.

NEVES, L. N. O.; DE OLIVEIRA, M. A. L. Quantification of lactose and lactulose in hydrolysed-lactose UHT milk using capillary zone electrophoresis. **International Dairy Journal**, v. 106, p. 1–11, 2020c.

NIKAM, P. *et al.* Milk enzymes. *In*: RAJPUT, Y. S.; SHARMA, R. **Foundations and frontiers in enzymology: Enzymes beyond traditional applications in dairy science and technology**, Academic Press, 2023. p 3-35.
of ensuring adequate calcium intake. **Nutrients**, v. 11, n. 718, p. 1-17, mar. 2019.

OTLES, S.; OZYURT, V. H. Instrumental food analysis. *In*: CHEUNG, P. C. K.; MEHTA, B. M. **Handbook of food chemistry**. 1 ed. Heidelberg: Springer Berlin, nov. 2015. p. 165-187.

OUELLETTE, R. J.; RAWN, J. D. Carbohydrates. *In*: **Organic Chemistry**, Elsevier Int., 2018. p. 889–928.

OXFORD LANGUAGES. **Dicionário de português**, 2024. Disponível em: <https://languages.oup.com/google-dictionary-pt/>. Acesso em: 15 fev. 2024.

- PASSOS, E. A. **Métodos Instrumentais de Análise**. São Cristovão: Universidade Federal do Sergipe/CESAD, 2011. 16 p.
- PERRONE, I. T. *et al.* **Doce de leite**: química e tecnologia. São Paulo: Cap-Lab Indústria e Comércio Ltda., 2019. 151 p.
- PINTO, P. A. *et al.* Strategies to determine lactose in cow milk by mid infrared spectroscopy. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 104, n. 104176, set. 2021.
- PLAZA-DIAS, J.; FONTANA, L.; GIL, A. Human milk oligosaccharides and immune system development. **Nutrients**, v. 10, n.1038, p. 1-17, ago. 2018.
- PORTNOY, M.; BARBANO, D. M. Lactose: use, measurement, and expression of results. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 7, p. 8314-8325, fev. 2021.
- QUEIROZ, S. C. N.; JARDIM, I. C. S. F. Eletroforese capilar. **Chemkeys**, 2001.
- RAMYA, R.; MUTHUKUMARAN, P.; WILSON, J. Electron beam-irradiated Polypyrrole decorated with Bovine serum albumin pores: simultaneous determination of Epinephrine and L-Tyrosine. **Biosensors and Bioelectronic**, v. 108, p. 53-61, 2018.
- RAO, P. S. *et al.* Traditional analytical approaches for lactose residues determination in lactose hydrolysed milks: a review. **LWT**, v. 151, p. 1-8, 2021.
- ROCHA, D. T.; CARVALHO, G. R.; RESENDE, J. C. **Cadeia produtiva do leite no Brasil: produção primária**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, CT n° 123, p.1-15, ago. 2020.
- ROHRER, J. **Carbohydrate analysis by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAE-PAD)**. Thermo Fisher Scientific, Nota Técnica n° 20, 2021.
- ROMERO-VELARDE, E. *et al.* The importance of lactose in the human diet: outcomes of a Mexican consensus meeting. **Nutrients**, v. 11, n. 2737, nov. 2019.
- SCHNEIDER, L. R., PEREIRA, R. P. G., FERRAZ, L. Prática Baseada em Evidências e a análise sociocultural na Atenção Primária. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 30, p. 1-18, 2020.
- SILVEIRA, M. F. *et al.* Simultaneous determination of lactulose and lactose in conserved milk by HPLC-RID. **Journal of Chemistry**, v. 2015, 2015.
- SMITH-HOWARD, K. **Pure and modern milk**: an environmental history since 1900. Oxford: Oxford University Press, 2017. 229 p.
- SOUZA, M. T.; SILVA, M. D.; CARVALHO, R. Revisão integrativa: o que é e como fazer. **Einstein**, v.1, n. 8, p. 102-106, mar. 2010.

SPUDEIT, D. A.; DOLZAN, M. D.; MICKE, G. A. Eletroforese Capilar: uma breve introdução. **Scientia Chromatographica**, v. 4, n. 4, p. 287–297, 2012.

STORHAUG, C. L.; FOSSE, S. K.; FADNES, L. T. Country, regional, and global estimates for lactose malabsorption in adults: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Gastroenterology and Hepatology**, v. 2, n. 10, p. 738–746, 2017.

THORNING, T. K. *et al.* Milk and dairy products: good or bad for human health? An assessment of the totality of scientific evidence. **Food and Nutrition Research**, v. 60, n. 32527, nov. 2016.

THORNING, T. K. *et al.* Whole dairy matrix or single nutrients in assessment of health effects: current evidence and knowledge gaps. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 105, p. 1033–1045, 2017.

THYGESEN, L. G. *et al.* Vibrational microspectroscopy of food. Raman vs. FT-IR. **Trends in Food Science & Technology**, v. 14, p. 50-57, 2003.

TOLKIEN, J.R.R. **The Hobbit**. 1. ed. 1937. Disponível em: <https://www.goodreads.com/work/quotes/1540236-the-hobbit>. Acesso em: 15 fev. 2024.

TRANI, A. *et al.* Comparison of HPLC-RI, LC/MS-MS and enzymatic assays for the analysis of residual lactose in lactose-free milk. **Food Chemistry**, v. 233, p. 385–390, 2017.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP). **Tipos de revisão de literatura**. Botucatu: Biblioteca Professor Paulo de Carvalho Matos - Faculdade de Ciências Agrônomicas, 2015. 9 p.

VAN SCHEPPINGEN, W. B. *et al.* Selective and sensitive determination of lactose in low-lactose dairy products with HPAEC-PAD. **Journal of Chromatography B**, v. 1060, p. 395-399, 2017.

WHITTIER, E. O. Lactose and its utilization: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 27, n. 7, p. 505-537, jul. 1944.

WONG, S. Y.; HARTEL, R. W. Crystallization in lactose refining - a review. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 3, p. 257-272, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Noncommunicable diseases**. Genebra, 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>. Acesso em: 15 jan. 2024.

WU, H. Electrochemical sensor based on ionic liquid for detection of lactose content in dairy products. **Food Measure**, v. 18, p. 313–319, 2023.

YADAV, L. D. S. Infrared (IR) Spectroscopy. *In: Organic Spectroscopy*. Springer, Dordrecht. 2005b. 324 p.

YADAV, L. D. S. Introduction to Spectroscopy (Spectrometry). *In: Organic Spectroscopy*. Springer, Dordrecht. 2005a. 324 p.

ZHANG, X. *et al.* Milk consumption and multiple health outcomes: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses in humans. **Nutrition and Metabolism**, v. 7, n. 18, p. 1-18, 2021.

ZHANG, Z. *et al.* Determination of lactulose in foods: a review of recent research. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, p. 1081-1087, jun. 2010.