

AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE DA LACTOSE EM LEITES COMERCIAIS APÓS DIGESTÃO IN VITRO E QUANTIFICAÇÃO POR CLAE/DIR

Isabela Maria Pereira Barbosa¹, Karla Moreira Vieira¹, Fabiana Aparecida Lobo², Ramon Moreira de Azevedo², Aline Gomes de Oliveira Paranhos²

¹Universidade Federal de Ouro Preto, Instituto de Ciências Exatas e Aplicadas, João Monlevade, Minas Gerais, Brasil (isabela.mpb@aluno.ufop.edu.br)

²Universidade Federal de Ouro Preto, Instituto de Ciências Exatas e Biológicas, Departamento de Química, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil

Resumo: O leite é um alimento de grande importância nutricional e econômica. Entretanto, a presença de lactose pode causar desconfortos em indivíduos intolerantes a esse açúcar, impulsionando a oferta de produtos rotulados como “zero lactose”. Neste trabalho, nove amostras de leite foram analisadas por meio de digestão *in vitro* e quantificação por CLAE/DIR, verificando a conformidade com limites da ANVISA e a segurança para consumo de intolerantes.

Palavras-chave: leite; lactose; digestão in vitro; bioacessibilidade; CLAE/DIR

INTRODUÇÃO

Entender os efeitos da digestão de alimentos é essencial, visto que a alimentação impacta diretamente a saúde. Uma comunicação clara e confiável sobre a composição alimentar é fundamental para garantir a segurança nutricional da população, especialmente para pessoas com restrições alimentares (ASSUNÇÃO; MARTINS; ALVITO, 2017).

A lactose é um dissacarídeo presente no leite de mamíferos, formado por glicose e galactose, que exige a enzima lactase para ser digerida. Pessoas com deficiência dessa enzima não conseguem processar adequadamente a lactose, podendo sofrer desconfortos gastrointestinais. Por isso, alimentos rotulados como “zero lactose” ou “baixo teor de lactose” deve ser analisados para garantir sua conformidade com os limites legais e a segurança do consumidor.

Estudos recentes indicam que cerca de 51% da população brasileira possui predisposição genética à intolerância à lactose, reforçando a necessidade de alternativas seguras e regulamentadas no mercado (METROPOLES, 2024). Em resposta a essa demanda,

a indústria láctea tem expandido a produção de leites zero lactose, voltados não apenas a pessoas intolerantes, mas também a consumidores que buscam dietas mais leves e funcionais. Esse crescimento é impulsionado pelo aumento do acesso a produtos especializados e pelo avanço das tecnologias de processamento.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) atualiza regularmente normas de rotulagem e controle de qualidade, garantindo a padronização e a segurança desses produtos no mercado brasileiro (ANVISA, 2023). O consumo de leite continua relevante tanto pelo seu valor nutricional quanto pelo impacto econômico. Garantir a segurança alimentar de intolerantes à lactose é um desafio que envolve tanto a produção quanto a fiscalização e a análise laboratorial dos produtos.

Diante desse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a presença e a bioacessibilidade da lactose em leites comerciais, com ênfase nos produtos rotulados como zero lactose. Para isso, as amostras foram submetidas à digestão *in vitro*, simulando as

condições do trato gastrointestinal, e posteriormente analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de índice de refração (CLAE/DIR). Os resultados obtidos foram comparados aos limites estabelecidos pela ANVISA, a fim de verificar a conformidade dos produtos analisados e contribuir para o conhecimento e o controle de qualidade dos alimentos destinados a pessoas com restrição ao consumo de lactose.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas nove amostras de leites comerciais, sendo sete rotuladas como zero lactose e duas correspondentes a leites com lactose. As amostras 1 a 4 foram submetidas à primeira etapa de digestão, enquanto as amostras 5 a 9 foram processadas na segunda etapa. Todas foram analisadas em duplicata e submetidas ao mesmo procedimento de digestão *in vitro*, preparo e análise cromatográfica, permitindo a comparação dos resultados obtidos.

Digestão *in vitro*

A digestão *in vitro* foi realizada conforme metodologia adaptada de Narita et al. (2022), com base nas recomendações do protocolo INFOGEST descritas por Minekus et al. (2014) e Silva et al. (2018b). Foram utilizados fluidos simulados correspondentes às etapas salivar, gástrica e intestinal da digestão.

A Tabela 1 apresenta a composição dos fluidos digestivos simulados utilizada no experimento.

Tabela 1. Composição dos fluidos digestivos simulados preparada para o experimento, adaptada do protocolo INFOGEST

Fluido Salivar		Fluido Gástrico		Fluido Intestinal	
Reagente	(g)	Reagente	(g)	Reagente	(g)
KCl	0,113	KCl	0,051	KCl	0,0507
KH ₂ PO ₄	0,05	KH ₂ PO ₄	0,012	KH ₂ PO ₄	0,0109
NaHCO ₃	1,14	NaHCO ₃	0,21	NaHCO ₃	0,714
MgCl ₂ ·(H ₂ O) ₆	0,003	NaCl	0,276	NaCl	0,225
(NH ₄) ₂ CO ₃	0,00058	MgCl ₂ ·(H ₂ O) ₆	0,0024	MgCl ₂ ·(H ₂ O) ₆	0,0067
HCl	9 µL	(NH ₄) ₂ CO ₃	0,0048	HCl	70 µL
CaCl ₂	0,008325	HCl	129 µL	CaCl ₂	0,0008325
α-Amilase	0,75912	CaCl ₂	0,0008325	Pancreatina	0,54304
Pepsina	1,062	-	-	Sais Biliares	2,7

Fonte: Minekus et al., 2014; Silva et al., 2018b

Para iniciar a etapa salivar, foram utilizados 2,5 g de cada uma das nove amostras de leite, aos quais foram adicionados 2,0 mL de fluido salivar e 0,5 mL de solução de cloreto de cálcio a 7,5 mmol/L. O pH foi ajustado para 7,0 com ácido sulfúrico, utilizando papel indicador, e as amostras permaneceram em banho-maria com agitação a 37 °C durante 10 minutos.

Na etapa gástrica, foram adicionados 4,55 mL de fluido gástrico e 350 µL de solução de cloreto de cálcio a 2,0 mmol/L. O pH foi ajustado para 3,0 com hidróxido de sódio, e as amostras foram mantidas em banho-maria a 37 °C durante 2 horas.

Ao final da digestão, as amostras foram colocadas em banho de gelo durante 20 minutos para interromper a atividade enzimática. Posteriormente, foram centrifugadas a 10.600 g durante 30 minutos. O sobrenadante obtido foi cuidadosamente separado, filtrado em membrana com porosidade de 0,45 µm e transferido para frascos apropriados para a determinação da lactose por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de índice de refração (CLAE/DIR).



Curva de calibração

Para a quantificação da lactose, foram construídas três curvas de calibração: Curva de Calibração do Analito em Solução (CCAS), Curva de Calibração da Matriz Branca Fortificada (CCMBF) e Curva de Calibração do Extrato da Matriz Branca Fortificada (CCEMBF).

Para a construção da CCAS, foi preparada uma solução-mãe contendo 5,0 g de lactose em 100 mL de água ultrapura (Milli-Q), resultando em uma concentração de 50.000 mg/L. A partir dessa solução, foram realizadas diluições para obtenção de padrões nas concentrações de 500, 700, 1.000, 1.200 e 1.500 mg/L.

Na construção da CCMBF, uma amostra de leite zero lactose foi utilizada como matriz branca. Diferentes volumes da solução-mãe foram adicionados diretamente a 10 mL de leite, obtendo-se padrões nas mesmas concentrações utilizadas na CCAS. A fortificação direta da matriz permitiu avaliar a resposta cromatográfica da lactose na presença dos demais componentes do leite.

Para a construção da CCEMBF, foram utilizadas amostras contendo 1,5 mL de leite zero lactose. As amostras foram centrifugadas a 4.180 g durante 2 horas, e o sobrenadante obtido foi cuidadosamente separado e filtrado utilizando filtro de seringa com porosidade de 0,22 µm. Em seguida, 100 µL do filtrado foram combinados com diferentes volumes da solução-mãe e de água ultrapura, obtendo-se padrões nas concentrações de 500, 700, 1.000, 1.200 e 1.500 mg/L. Nessa curva, a adição da lactose foi realizada após a etapa de extração da matriz.

As três curvas foram construídas para comparar a resposta cromatográfica da lactose em solução, na matriz do leite e no extrato obtido após a centrifugação e a filtração.

Condições cromatográficas

A determinação da lactose foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de índice de refração (CLAE/DIR), conforme a metodologia descrita por Azevedo (2024). Foi utilizada uma coluna Aminex® Fast Carbonate, com dimensões de 100 mm × 7,8 mm, mantida a 85 °C. A fase móvel foi constituída por água deionizada, com fluxo de 1,0 mL/min, e o volume de injeção foi de 10 µL. A detecção foi realizada utilizando o detector de índice de refração RID-20A, da Shimadzu.

As áreas dos picos cromatográficos foram relacionadas às concentrações dos padrões por meio de regressão linear. Para cada curva foram determinadas a equação da reta, o coeficiente de determinação e a estatística F. Posteriormente, as curvas foram comparadas para selecionar aquela que apresentou o melhor ajuste para a quantificação da lactose nas amostras de leite.

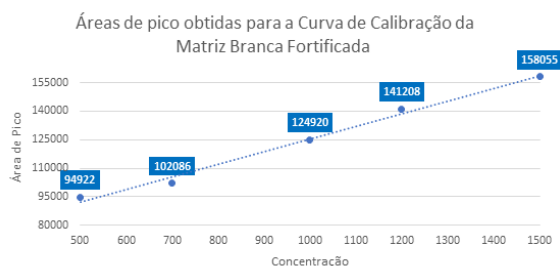
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a digestão *in vitro* das amostras e a preparação dos padrões, foram construídas três curvas de calibração: Curva de Calibração do Analito em Solução (CCAS), Curva de Calibração da Matriz Branca Fortificada (CCMBF) e Curva de Calibração do Extrato da Matriz Branca Fortificada (CCEMBF). As curvas foram obtidas relacionando as concentrações dos padrões de lactose às respectivas áreas dos picos cromatográficos.

Curvas Analíticas

A Curva de Calibração da Matriz Branca Fortificada apresentou equação de regressão linear igual a ($y = 66,252x + 59,311$), com coeficiente de determinação ($R^2 = 0,9908$). O aumento da concentração da lactose foi acompanhado pelo aumento da área dos picos cromatográficos, indicando relação linear entre as variáveis na faixa analisada.

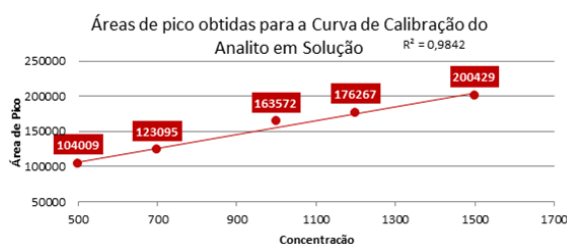
Gráfico 1. Curva de Calibração do analito



Fonte: Autoria própria

A Curva de Calibração do Analito em Solução apresentou equação de regressão linear igual a $y = 98,539x + 56.906$, com coeficiente de determinação $R^2 = 0,9842$. O valor obtido demonstrou bom ajuste da regressão linear aos dados experimentais.

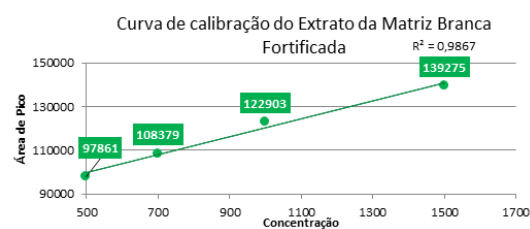
Gráfico 2. Curva de Calibração do Analito em Solução (CCAS)



Fonte: Autoria própria

Na construção da Curva de Calibração do Extrato da Matriz Branca Fortificada, observou-se que um dos pontos apresentou valor distante da tendência linear verificada entre a concentração e a área do pico. Por esse motivo, o ponto discrepante foi retirado da análise, reduzindo a dispersão dos dados e melhorando o ajuste da regressão linear. A equação obtida foi $y = 41,101x + 79.086$, com coeficiente de determinação $R^2 = 0,9867$.

Gráfico 3. Curva de calibração do extrato da matriz branca fortificada (CCEMBF)



Fonte: Autoria própria

Após a retirada do ponto discrepante, a CCEMBF apresentou bom ajuste ao modelo linear. Entretanto, a exclusão desse ponto deve ser considerada durante a interpretação dos resultados obtidos para essa curva. O teste F foi utilizado para avaliar o ajuste dos modelos de regressão. Na comparação entre as três curvas, a CCMBF apresentou $R^2 = 0,9908$ e $F = 323,1$; a CCAS apresentou $R^2 = 0,9842$ e $F = 187,1$; e a CCEMBF apresentou $R^2 = 0,9867$ e $F = 222,6$.

Embora as três curvas tenham apresentado bom ajuste aos dados experimentais, a CCEMBF destacou-se por apresentar os maiores valores de R^2 e de F , sendo selecionada para a quantificação da lactose nas amostras de leite.

Análise do teor de lactose em amostras de leite comerciais digeridas

A partir da equação da curva de calibração selecionada, foram calculadas as concentrações de lactose das nove amostras de leite com base nas áreas dos picos cromatográficos obtidos por CLAE/DIR. As análises foram realizadas em duplicata, e os valores de concentração e suas respectivas médias são apresentados na Tabela 2.

Tabela 02. Concentração média de lactose em leites zero lactose e comum digeridos, determinada por CLAE/DIR, calculada utilizando a curva de calibração do extrato da matriz branca fortificada (CCEMBF)

Amostra	Área	Concentração (mg/L)	Média (mg/L)	Média (mg/100mL)
1	495415	6582,5	6486,42	64,86
1.2	482683	6390,33		
2	500706	6662,36	6848,63	68,49
2.2	525387,5	7034,9		
3	511404	6823,84	7039,12	70,39
3.2	539929,5	7254,4		
4	926109,5	13083,36	16629,6	166,3
4.2	1396003	20175,87		
5	751793	10452,24	10350	103,5
05.1	738250	10247,83		
6	736991	10228,82	10178,8	101,79
06.1	730366	10128,83		
7	696420	9616,45	9841,14	98,41
07.1	726192	10065,82		
8	727956	10092,45	9838,34	98,38
08.1	694286	9584,24		
9	1214365	17434,25	18542,6	185,43
09.1	1361220	19650,86		

Fonte: Autoria própria

Os resultados apresentados na Tabela 2 evidenciam diferenças entre as concentrações de lactose encontradas nas amostras analisadas. De acordo com os critérios utilizados neste trabalho, produtos classificados como isentos de lactose ou zero lactose devem apresentar teor igual ou inferior a 100 mg/100 mL. Produtos com concentração superior a esse valor e igual ou inferior a 1.000 mg/100 mL podem ser classificados como de baixo teor de lactose.

Entre as sete amostras rotuladas como zero lactose, as amostras 1, 2 e 3 apresentaram concentrações médias de 64,86, 68,49 e 70,39 mg/100 mL, respectivamente. As amostras 7 e 8 apresentaram valores de 98,41 e 98,38 mg/100 mL. Esses cinco resultados ficaram abaixo do limite de 100 mg/100 mL adotado para a classificação como zero lactose.

As amostras 5 e 6, também rotuladas como zero lactose, apresentaram concentrações médias de 103,50 e 101,79 mg/100 mL, respectivamente. Esses valores

ficaram ligeiramente acima do limite considerado para produtos isentos de lactose, mas permaneceram dentro da faixa utilizada para a classificação de produtos com baixo teor de lactose.

As amostras 4 e 9, correspondentes aos leites com lactose, apresentaram concentrações médias de 166,30 e 185,43 mg/100 mL, respectivamente. Esses valores foram superiores aos observados nas amostras rotuladas como zero lactose.

De modo geral, cinco das sete amostras rotuladas como zero lactose apresentaram concentrações inferiores ao limite de 100 mg/100 mL, enquanto duas apresentaram valores ligeiramente superiores. Além disso, as duas amostras de leite com lactose apresentaram as maiores concentrações entre os produtos analisados.

Os resultados obtidos demonstram que as amostras rotuladas como zero lactose apresentaram redução no teor desse açúcar quando comparadas às amostras de leite com lactose. Entretanto, nem todas atenderam ao limite adotado para a classificação como isentas de lactose, reforçando a importância da avaliação analítica desses produtos.

CONCLUSÃO

A digestão *in vitro* associada à análise por CLAE/DIR possibilitou a determinação da lactose nas nove amostras de leite avaliadas. Entre as sete amostras rotuladas como zero lactose, cinco apresentaram concentrações inferiores ao limite de 100 mg/100 mL, enquanto duas apresentaram valores ligeiramente superiores. As amostras de leite com lactose apresentaram as maiores concentrações entre os produtos analisados.

As curvas analíticas apresentaram bom ajuste aos dados experimentais, com destaque para a Curva de Calibração da Matriz Branca Fortificada, que apresentou os maiores valores de R^2 e de F e foi utilizada na quantificação das amostras. Dessa forma,



o procedimento empregado permitiu diferenciar os produtos de acordo com seus teores de lactose.

Entretanto, os valores obtidos para algumas amostras devem ser interpretados com cautela, considerando as condições experimentais e as limitações relacionadas à faixa da curva de calibração. Assim, os resultados não devem ser utilizados isoladamente para afirmar a não conformidade dos produtos, mas contribuem para a avaliação analítica e para o controle de qualidade de leites comerciais rotulados como zero lactose.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi desenvolvido com o apoio da FAPEMIG e da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), que contribuíram com o suporte financeiro e com a infraestrutura necessária à realização da pesquisa. Agradecemos também ao técnico Reginaldo Moreira pelo auxílio durante as atividades experimentais.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Rotulagem de lactose em alimentos tem regra publicada. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2017/rotulagem-de-lactose-em-alimentos-tem-regra-publicada>. Acesso em: 25 out. 2025.

ASSUNÇÃO, R.; MARTINS, C.; ALVITO, P. Bioacessibilidade: um conceito crucial para a informação alimentar. In: REUNIÃO ANUAL PORTFIR: INFORMAÇÃO ALIMENTAR – CRIANDO PONTES PARA OBSERVAÇÃO EM SAÚDE, 10., 2017, Lisboa. Lisboa: INSA, 2017.

AZEVEDO, R. M. Desenvolvimento e otimização de método para análise de lactose usando CLAE-DIR: aplicação em produtos “zero lactose”. 2024.

METRÓPOLES. Genética: 51% dos brasileiros têm tendência à intolerância à lactose. 2023. Disponível

em: <https://www.metropoles.com/saude/genetica-51-dos-brasileiros-tem-tendencia-a-intolerancia-a-lactose>. Acesso em: 25 out. 2025.

MINEKUS, M. et al. A standardised static in vitro digestion method suitable for food: an international consensus. Food & Function, v. 5, n. 6, p. 1113–1124, 2014. DOI: 10.1039/C3FO60702J.

NARITA, I. M. P. et al. Bioacessibilidade in vitro de carotenoides e compostos fenólicos e capacidade antioxidante de farinhas do fruto pequi (Caryocar brasiliense Camb.). Brazilian Journal of Food Technology, v. 25, e2021068, 2022.

SILVA, S. R. D. et al. Biscoito tipo cookie de farinha de amêndoa de pequi: avaliação física e química. Relatório técnico. Instituto Federal Goiano, 2018.