

UFMG

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**



Análise Do Teor De Lactose Em Sete Marcas De Iogurtes Populares

**Natan Pedersolli
Bruna Silva
César Caldeira**

**Belo Horizonte
Novembro - 2013**

**Natan Pedersolli
Bruna Silva
César Caldeira**

Analise Do Teor De Lactose Em Sete Marcas De Iogurtes Populares

Artigo apresentado ao curso de Ciências Biológicas
como um dos pré-requisitos para aprovação na
disciplina Projetos em Bioquímica, na Universidade
Federal de Minas Gerais

**UFMG
Belo Horizonte - 20/12/2013**

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Bruna, do Departamento de Química Orgânica da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), pelos reagentes cedidos possibilitando a realização do experimento. Agradecemos também ao Professor Jamil do Laboratório de Enzimologia e Físico-química de Proteínas do Departamento de Bioquímica e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), por nos deixar utilizar o espectrofotômetro do seu laboratório e nos auxiliar no uso do aparelho.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	4
OBJETIVOS	5
3- MATERIAIS E METODOS	5
3.1- METODO.....	5
3.2- SOLUÇÕES.....	6
3.3- RETA PADRÃO.....	7
3.4- PREPARO DAS AMOSTRAS.....	8
3.5- PROCEDIMENTO DE DETERMINAÇÃO DE AÇUCAR REDUTOR.....	8
RESULTADOS.....	9
CONCLUSÃO	10
REFERENCIAS	11

INTRODUÇÃO

O leite e seus derivados são importantes fontes de cálcio, proteína de alta qualidade, potássio, fósforo, riboflavina, magnésio e zinco, razão pela qual sua inclusão na dieta habitual de crianças, adolescentes e adultos, está relacionada à prevenção de osteoporose e hipertensão arterial (SUAREZ & SAVIANO, 1997). Recentemente tem sido sugerido que o consumo de leite e derivados, devido ao conteúdo de cálcio, pode desempenhar um papel importante no tratamento do câncer de colón, tensão pré-menstrual e da síndrome de ovários policísticos, bem como na prevenção de litíase renal e no controle do peso corporal (MILLER, *et al*, 2001).

Um dos produtos derivados do leite com grande consumo na população brasileira, principalmente pela faixa etária infantil é o iogurte, que é previamente pasteurizado e homogeneizado ao qual são adicionadas duas espécies de bactérias (*Streptococcus thermo hiluse* e *Lactobacillus bulgaricus*). Estes microrganismos participam da hidrólise da lactose durante os processos de fermentação e após a ingestão da lactose. Calcula-se que a fermentação diminui o índice da lactose em aproximadamente 25-50% (BORGES; *et al*; 2009).

A intolerância à lactose é o tipo mais comum de intolerância a carboidratos (TÉO, 2002), A incapacidade de digerir lactose, é o resultado da deficiência ou ausência da enzima intestinal chamada β -galactosidase (lactase). Esta enzima possibilita a quebra da molécula deste carboidrato em monossacarídeos (galactose e glicose), facilitando a sua absorção pelo intestino (SUENAGA *et al*, 2003). Mais de 50% da população mundial apresenta condição de intolerância à lactose, sendo esta uma das mais comuns desordens genéticas (DURING *et al.*,1998). Ao ingerir produtos com lactose essas pessoas sofrem alguns dos seguintes sintomas: gases no intestino grosso, inchaço, dores abdominais, diarreia ou náusea. Estes problemas podem ocorrer poucos minutos após a ingestão do alimento contendo lactose ou, até mesmo, horas depois, e podem se manifestar em intensidades que variam de pessoa para pessoa (LACAZ-RUIZ, 2001). Naturalmente, os produtos lácteos fermentados, como o iogurte, apresentam menor teor de lactose, que pode ser variável dependendo dos ingredientes usados na sua produção (BORGES, *et al*, 2007).

OBJETIVOS

- O objetivo deste trabalho é quantificar o teor de lactose em sete amostras de diferentes marcas de valor popular de iogurte.
- Determinar qual das sete amostras é mais recomendada para pessoas com intolerância a lactose.

MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

Para realização do experimento foi utilizado a quantidade de 1,0 ml do reagente de Somogyi-Nelson na proporção de 1:1. A cada 1,0 ml de iogurte usa-se 1,0ml de ambos os reagentes. Para a realização dos testes foi necessário à compra de sete bandejas de iogurtes de marcas diferentes com preços populares. Por iogurtes de preço popular entende-se iogurtes cujas bandejas tem um valor de R\$0,01 a R\$3,50.

3.1.1 Método

A determinação de açúcares pelo método de Somogyi-Nelson é baseada nas propriedades redutoras dos açúcares, pela reação da hidroxila hemiacetálica dos monossacarídeos. A diferença dessa metodologia em relação a outros métodos de determinação de açúcares redutores é a sensibilidade do método, cuja faixa de determinação situa-se entre 25 e 500 mg/L. Açúcares redutores contêm um grupo aldeído ou cetônico que, em soluções alcalinas, reduzem íons de cobre, prata, bismuto e mercúrio a compostos de valência menor. (MALDONADE, *et, et*, 2013). O princípio do método de Somogyi-Nelson baseia-se na redução de Cu^{++} a Cu^+ pelo açúcar redutor com formação Cu_2O , que reduz o arsenomolibdato e produz um composto de coloração azul (NELSON, 1960).

3.2 Soluções

3.2.1 Reativo de Somogyi

Foram preparadas duas soluções: Solução A: 25g de Carbonato de sódio anidro (Na_2CO_3), 20g de Bicarbonato de sódio (NaHCO_3), 200g de Sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), 25g Tartarato duplo de sódio e Potássio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$), 1000 ml de água destilada deionizada. Solução B: 15g Sulfato de Cobre Penta Hidratado ($\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$), 100 ml de água destilada deionizada.

As soluções foram deixadas em repouso por um período de 24h. Após o período de repouso as soluções A e B foram misturadas na proporção de 24,0ml da solução A para 1,0ml da solução B. A solução final foi utilizada imediatamente após o preparo. [2]

3.2.2 Reativo de Nelson

Foram preparadas duas soluções: Solução A: 25g de Molibdato de amônio, 450 ml de água deionizada, 21,0 ml de Ácido sulfúrico (H_2SO_4). Solução B: 3g de Arseniato dibásico de sódio anidro (Na_2HAsO_4), 25,0 ml de água deionizada.

As soluções A e B foram misturadas um dia antes da análise e mantidas em frasco escuro a 37°C por 24h. [2]

3.2.3 Solução padrão de lactose

Foi pesado em balança analítica 0,10g de lactose, dissolvida em 1000 ml de água deionizada, sob agitação constante. Esta solução foi preparada e utilizada no dia da análise. [1]

3.3 Reta padrão de açúcar redutor

Foram feitas diluições da solução padrão de lactose (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) com água deionizada em tubos de ensaio (Tabela 01). Em seguida os tubos foram colocados sob agitação para homogeneização. Foi retirada uma alíquota de 1,0 ml para o teste dos reativos. [1]

Tubo	Volume de lactose	Volume de água deionizada
1	0,0 ml	1,0 ml
2	0,2 ml	0.8 ml
3	0,4 ml	0.6 ml
4	0,6 ml	0.4 ml
5	0,8 ml	0.2 ml
6	1,0 ml	0,0 ml

Tabela 1: Preparo das diluições da solução padrão de lactose.

Foi acrescentado 1,0ml de Reativo se Somogyi em cada tubo sob agitação constante. Os tubos foram colocados em banho-maria a 100°C, utilizando aparelho de banho termostático da marca B. Braun, modelo Thermomix Bm-S/18bu durante 10 minutos. Depois os tubos foram resfriados rapidamente em água corrente. Foi adicionado 1,0 ml de Reativo de Nelson em cada tubo sob agitação constante. Os tubos foram completados com 7,0 ml de água destilada. Foi feita leitura no espectrofotômetro em 530 nm.[1][2]

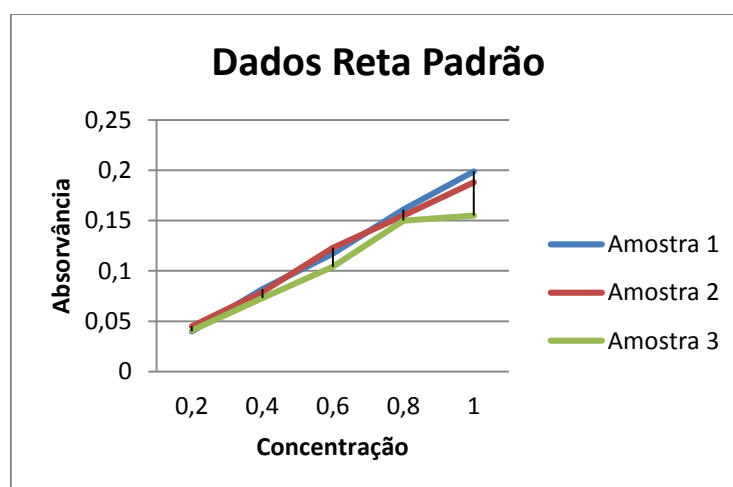


Figura 1: Dados de absorvância da curva padrão

As amostras para a construção da reta padrão de açúcar redutor foram feitas em triplicata, totalizando 15 tubo de ensaio.

A curva padrão foi construída com base nos resultados da média aritmética das 3 amostras, nas concentrações de 0,2 ml, 0,4ml, 0,6ml, 0,8ml e 1,0 ml

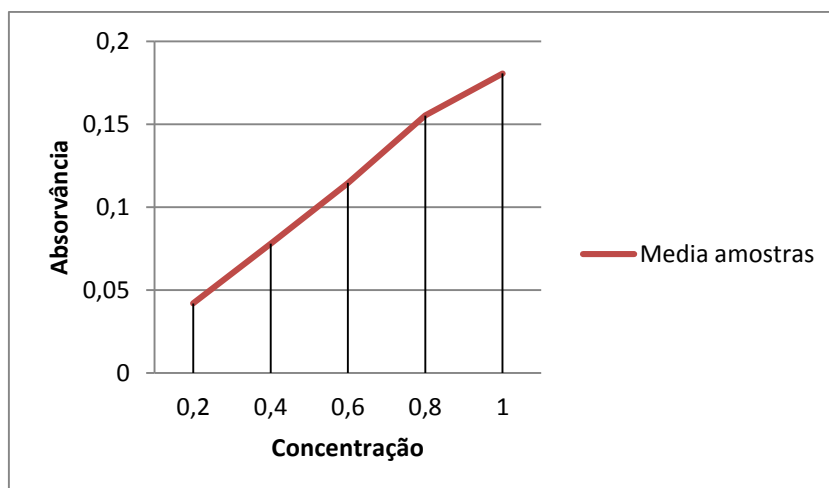


Figura 2: Curva padrão

3.4 Preparo das amostras de iogurte

Foi transferido 1,0 ml de iogurte para o balão volumétrico e depois o volume foi completado com água destilada. Agitou-se bem. Foi transferido 1,0 ml da solução da amostra de iogurte para o tubo de centrífuga.

A remoção de interferentes foi efetuada pela adição de 1,0 ml de $ZnSO_4$ a 5%, os tubos foram agitados e depois foi acrescentado 1,0 ml de hidróxido de bário 0,3N. Os tubos foram agitados novamente e logo em seguida foram completados a 10 ml adicionado 7 ml de água destilada.

Foi realizada centrifugação a 300 x g durante 5 minutos (3.000 RPM) utilizando a centrífuga marca Fanem, modelo Excelsa 208N.

Todas as amostras foram realizadas em iogurtes condicionados a temperatura de 6 °C, dentro do prazo de validade. Os iogurtes só foram abertos na hora da análise..

3.5 Procedimento de determinação de açúcares redutores

Pegou-se 1,0 ml do sobrenadante de cada tubo de centrífuga e transferiu para tubos de ensaio. Foi adicionado 1,0 ml de Reativo de Somogyi em cada tubo sob agitação constante. Os tubos foram colocados em banho-maria a 100°C, utilizando aparelho de banho termostático da marca B. Braun, modelo Thermomix Bm-S/18bu durante 10 minutos Depois os tubos foram resfriados rapidamente em água corrente. Logo em seguida foi adicionado aos tubos 1,0 ml de Reativo de Nelson sob agitação constante.

Foi adicionado 7 ml de água em cada tubo para completar 10 ml. Todos os tubos foram agitados três vezes por inversão antes da realização da leitura.

A leitura dos teores foi feita em espectrofotômetro na faixa de 530nm.

Todas as amostras foram feitas em triplicata, para maior segurança dos resultados.

Foi feito o cálculo para determinar o valor de lactose em cada amostra, através da equação:

$$\text{Eq. 1: } y(\text{mg/L}) = 0,5776x + 0,0085$$

$$R^2 = 0,994.$$

RESULTADOS

Os resultados mostram que há uma grande diferença no teor de lactose entre as amostras, variando entre 4,0g e 8,4g conforme mostra a tabela 2.

Marca do iogurte	Sabor	Concentração de lactose g/100ml
Amostra 1	Morango	6,0g
Amostra 2	Morango	7,6g
Amostra 3	Morango	5,5g
Amostra 4	Morango	7,0g
Amostra 5	Morango	8,4g
Amostra 6	Morango	6,6g
Amostra 7	Morango	4,0g

Tabela 2: Quantidade de lactose presente nas amostras de iogurte.

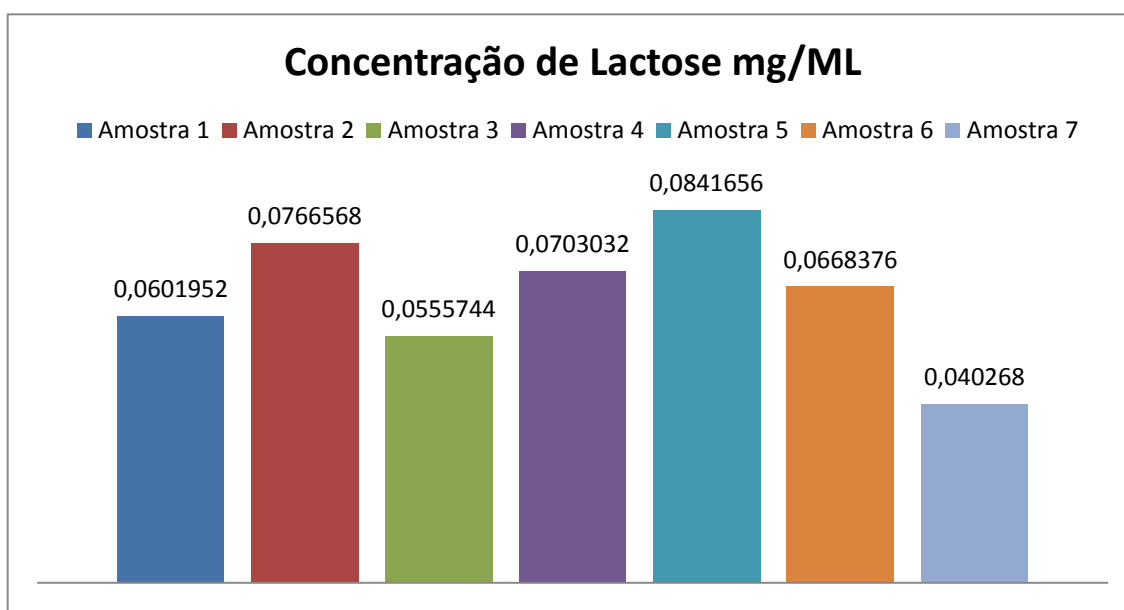


Imagem 3: Demonstra as diferentes concentrações de lactose por porção, presente em cada amostra de iogurte.

CONCLUSÃO

Atualmente existe uma grande gama de produtos derivados do leite disponíveis no mercado, como iogurtes, queijos, doces e raramente estes produtos vem especificando o teor de lactose por porção na embalagem.

Após a confirmação da intolerância a lactose, recomenda-se a redução ou que se elimine o consumo deste glicídio da dieta. Estudos revelam que é necessário apenas seis gramas de lactose para causar má absorção e sintomas em indivíduos com hipolactasia (BORGES, et al., 2009).

O presente estudo mostrou uma grande diferença do teor de lactose nas amostras, variando entre 4,0g e 8,4g por porção. A partir da análise dos dados podemos concluir que algumas marcas ultrapassam o limite de 6g de lactose e podem causar certo desconforto ao portador de hipolactasia.

Com base nas amostras analisadas, a Amostra 7 e a Amostra 3 são as únicas recomendada para consumo por pessoas com intolerância a lactose e todas as outras amostras devem ser evitadas. Existem amostras com valor pouco acima de seis gramas de lactose ou muito próximo, que devem ser testados por pessoas com intolerância a lactose a fim de se elaborar uma quantidade segura de ingestão diária do glicídio.

Concluimos nosso trabalho mostrando que seria de grande valia ao consumidor que fosse informado na tabela de informação nutricional, além dos carboidratos gerais, também o teor de lactose por porção. A adição desta informação evitaria que pessoas com hipolactasia entrem em contato com iogurtes rico em lactose. A adição desta informação também vai ajudar os portadores de hipolactasia a elaborar um limite confortável de consumo, minimizando assim os efeitos colaterais derivados da ingestão da lactose, já que algumas pessoas apresentam alguma produção de lactase no intestino e toleram certas doses de lactose.

REFERÊNCIAS

- [1] Disciplina de Biociências I (DB-110) Bioquímica; Aula Prática 5.
Disponível em: <<http://docentes.esalq.usp.br/luagallo/apostilapratica2010.doc>>. Acesso em: 19 de novembro. 2013.
- [2] UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO; Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”; Departamento de Ciências Biológicas; BIOQUÍMICA – LCB 208; ROTEIRO DE AULAS PRÁTICAS.
Disponível em: < http://www.fop.unicamp.br/dcf/bioquimica/downloads/Roteiro_P6-2005.doc >. Acesso em: 10 de novembro. 2013.
- BORGES, T.; PINHO, O.; FERREIRA, I.; TRINDADE, E.; PISSARA, S.; AMIL, J. Quantificar o teor de lactose em iogurtes. *Alimentação Humana*, 2007, volume 13, nº2. Página 27.
- BORGES, T.; FERREIRA I.; PINHO, O.; TRINDADE, E.; PISSARA, S. AMIL, J. Quanta lactose há no meu iogurte?, 2009, numero 9, pagina 28–29.
- DURING, M. J.; XU, R.; YOUNG, D.; KAPLITT, M. G.; SHERWIN, R. S.; LEONE, P. Peroral gene therapy of lactose intolerance using an adeno-associated virus vector. *Nature Medicine*, v. 4, p.1131-1135, 1998.
- LACAZ-RUIZ, R. Um dos problemas do leite: lactose. *Jornal O movimento*, 06 jan. 2001. Ano LXVI, n. 4925, p. A2.
- MALDONADE, R.I; CARVALHO P. G. B; FERREIRA,N. A; MOULIN, B. S. F; Protocolo para determinação de açúcares redutores pelo método de Somogyi-Nelson. Embrapa, Março, 2013. Pág 86.
- MILLER,G.D.; JARVIS, J.K; McBEAN, L.D. The importance of meting calcium needs with foods. *Journal of The American college of Nutrition*, 20 (2): 168s-158s, 2001
- SUAREZ, F.L.; SAVIANO, D.A. Diet, genetics, and lactose intolerance. *Food Technology*. 51 (3): 74-76, 1997
- SUENAGA, C. I.; SIU, E. R.; KATO L. M.; OSAKO, M. K. Intolerância à lactose. UNIFESP: Escola Paulista de Medicina. Disponível em: <<http://www.virtual.epm.br/material/tis/curr-bio/trab2001/grupo1/intolerancia.htm>>. Acesso em: 30 de junho. 2013.
- TÉO, C.R.P.A, Intolerância à lactose: uma breve revisão para o cuidado nutricional / Lactose intolerance: a brief review for the nutritional care, *Arq. ciências saúde UNIPAR*;6(3):135-140, set.-dez. 2002