



## Teor de lactose em queijo fino tipo Brie com método alternativo


Lactose content in fine brie cheese with alternative method

 DOI: 10.5281/zenodo.8023685

 ARK: 57118/JRG.v6i13.596

Recebido: 04/04/2023 | Aceito: 10/06/2023 | Publicado: 01/07/2023

### Lucinéia Nunes de Paula<sup>1</sup>


 <https://orcid.org/0009-0006-6698-5529>

 <http://lattes.cnpq.br/1605940488255225>

Uniamérica – Polo Biopark Toledo, PR, Brasil

E-mail: neia.nunes@hotmail.com

### Maria Odete de Moraes<sup>2</sup>


 <https://orcid.org/0009-0006-2958-1912>

 <http://lattes.cnpq.br/0776487345544615>

Uniamérica – Polo Biopark Toledo, PR, Brasil

E-mail: mariaodetedemoraes@gmail.com

### Kelly Cristina Massarolo<sup>3</sup>


 <https://orcid.org/0000-0002-6834-1771>


 <http://lattes.cnpq.br/6589826002452203>

Uniamérica – Polo Biopark Toledo, PR, Brasil

E-mail: kelly.massarolo@bpkedu.com.br

### Leandro Pais de Paula<sup>4</sup>

 <https://orcid.org/0009-0001-3724-3968>

 <http://lattes.cnpq.br/9229734534371300>

Uniamérica – Polo Biopark Toledo, PR, Brasil

E-mail: leandro.paula@bpkedu.com.br



## Resumo

A intolerância à lactose é um distúrbio que atinge grande parte da população. Diante disso, é indispensável o uso de métodos confiáveis para detecção e quantificação de lactose em leite e seus derivados. Por esta razão, este estudo visa adaptar o método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (ADNS) para quantificar lactose em leite e queijo fino tipo Brie, e aplicar o método validado na determinação de lactose durante a vida de prateleira do queijo. Para isso, primeiramente um método alternativo do ADNS foi validado seguindo os parâmetros de validação (linearidade, precisão, exatidão, limites de detecção e quantificação) determinados segundo diretrizes da RDC N° 166, de 24 de julho de 2017 da ANVISA. Após validação, o método foi utilizado para determinar

<sup>1</sup> Possui graduação em Administração pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná (2010). Graduanda em Farmácia pela Faculdade União das Américas, UNIAMERICA, Brasil. Atualmente é Analista de Departamento Pessoal da Prati-Donaduzzi.

<sup>2</sup> Graduanda em Farmácia pelo Uniamérica – Polo Biopark.

<sup>3</sup> Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande - FURG (2020), Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos - FURG (2016). Especialista em Tecnologia de Alimentos para Agroindústria pela Faculdade Assis Gurgacz (2010). Tecnóloga em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Medianeira (2008). Recebeu Prêmio Capes de Tese 2021 na área de Ciência de Alimentos.

<sup>4</sup> Possui graduação em Química Licenciatura pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE (2017), possui especialização em Engenharia da Qualidade e Produtividade pelo Centro Universitário Internacional - UNINTER (2022). Atualmente é acadêmico do Mestrado Profissional em Tecnologias em Biociências pela Universidade Tecnológica do Paraná - UTFPR e atua como Analista de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação da Associação de Pesquisa, Ensino e Extensão - Faculdade Biopark.

o teor de lactose no queijo tipo Brie em quatro períodos, nos tempos 1, 8, 20 e 33 dias de vida de prateleira. Os teores de recuperação de lactose no leite e queijo tipo Brie foram de 103% e 68%, respectivamente. O teor de lactose no queijo tipo Brie foi de 2,41 mg/g; 1,97 mg/g; 1,19 mg/g e 0,49 mg/g, nos tempos 1, 8, 20 e 33 dias, respectivamente. Desta forma foi possível evidenciar a redução no teor de lactose do queijo Brie, conforme a vida de prateleira.

**Palavras-chave:** Ácido 3,5-dinitrosalicílico. Brie. Parâmetros de validação

### **Abstract**

Lactose intolerance is a disorder that affects a large part of the population. In view of this, the use of reliable methods for detecting and quantifying lactose in milk and its derivatives is essential. For this reason, this study aims to adapt the 3,5-dinitrosalicylic acid (ADNS) method to quantify lactose in milk and fine Brie cheese, and to apply the validated method in the determination of lactose during the shelf life of the cheese. For this, an alternative DNAS method was first validated following the validation parameters (linearity, precision, accuracy, limits of detection and quantification) determined according to guidelines of RDC N°166, of July 24, 2017 by ANVISA. After validation, the method was used to determine the lactose content in Brie cheese in four periods, at times 1, 8, 20 and 33 days of shelf life. The recovery levels of lactose in milk and Brie cheese were 103% and 68%, respectively. The lactose content in Brie-type cheese was 2.41 mg/g; 1.97 mg/g; 1.19 mg/g and 0.49 mg/g, at times 1, 8, 20 and 33 days, respectively. In this way, it was possible to demonstrate the reduction in the lactose content of Brie cheese, according to shelf life.

**Keywords:** 3,5-dinitrosalicylic acid. Brie. Validation parameters

## **1. Introdução**

O leite bovino, fluido complexo que contém água, lipídios, proteínas, carboidratos e sais minerais, é considerado um alimento importante para a saúde, sendo a lactose seu principal carboidrato, representando de 4% a 6% de sua composição. Este carboidrato é um dissacarídeo, que para ser digerido e absorvido, necessita de plena atividade da enzima lactase (SILVA, 2017). No entanto, aproximadamente 75% da população mundial é intolerante à lactose (BRANCO et al., 2017), que é caracterizada pela incapacidade de metabolizar esta biomolécula devido a deficiência da enzima lactase (OLIVEIRA, 2009).

Devido ao elevado percentual de Intolerantes à Lactose (IL), há um aumento nas pesquisas para proporcionar ao mercado produtos lácteos com baixo teor ou sem esse carboidrato, dentre os produtos demandados pela população, destacam-se os queijos (DANTAS, 2019). Para que um queijo, exceto de longa maturação, seja comercializado com a alegação de baixo teor de lactose, o mesmo deve conter até 1% de lactose, e para declarar no rótulo isento de lactose, 0,1% é o máximo que se pode conter em sua composição (ANVISA, 2017).

De acordo com o Manual de Métodos de Análises do MAPA de 2022, as metodologias oficiais para determinação do teor de lactose são IDF 214 – ISO 26462:2010 para leite fluido e IDF 198 - ISO 22662:2007 para leite e outros produtos lácteos, exceto queijo em pó e soro de leite em pó. A IDF 214 utiliza o método enzimático por diferença de pH para a medição do teor de lactose. Já a IDF 198 emprega a cromatografia líquida de alta eficiência.

As análises cromatográficas e enzimáticas demandam de equipamentos e reagentes sofisticados, bem como elevado custo de análise (SILVA et. Al., 2020). Portanto, há necessidade no desenvolvimento de técnicas alternativas acessíveis para avaliar o teor de lactose em leite e queijos. Neste contexto, o método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (ADNS) é promissor para determinação de lactose, pois a molécula de lactose contém açúcar redutor (SILVA et. Al., 2020) e o reagente ADNS, um composto amarelo que pode ser reduzido por açúcares redutores a um composto colorido avermelhado (VASCONCELOS; PINTO; ARAGÃO, 2013), com absorção máxima na região do visível em comprimento de onda 546 nm (GONÇALVES et al., 2010). No entanto, para garantir a reprodutibilidade e exatidão do método é necessária validação do mesmo nas diferentes matrizes, pois cada alimento necessita de preparo de amostra diferente para remoção dos interferentes (BARROS, 2002).

Portanto, o objetivo do trabalho foi validar o método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (ADNS) para quantificar lactose em leite e queijos fino tipo Brie, e aplicar o método validado na determinação de lactose no queijo tipo Brie para identificar o efeito da vida de prateleira no teor de lactose neste queijo.

## **2.2 Material e Métodos**

A validação do método foi realizada em leite integral e queijo fino tipo Brie. O leite e queijo foram fornecidos pelo Projeto de Pesquisa, Desenvolvimento & Inovação em Queijos Finos – Biopark Educação. O padrão de lactose foi adquirido do êxodo científico e as análises realizadas nos laboratórios da Faculdade Biopark – Biopark Educação, em Toledo, Paraná.

### **2.1 Preparo das amostras**

#### **2.1.1 Leite**

A amostra de leite foi preparada retirando uma alíquota de 1 mL do leite e diluindo em 5 mL de água destilada. Após, a amostra foi submetida ao processo de clarificação, para isso foi adicionado 1 mL de Carrez 1 e 1 mL de Carrez 2, a solução foi centrifugada e o sobrenadante transferido para balão volumétrico de 50 mL, completado o volume com água destilada. A amostra obtida foi utilizada para determinação de lactose.

#### **2.1.2 Queijo**

As amostras de queijo foram trituradas para redução do tamanho de partículas e pesados 5 g. Em seguida, foram adicionados 10 mL de água destilada e mantido em banho maria à 50 °C por 30 minutos. Logo após, a amostra foi submetida ao processo de clarificação com 3 mL de Carrez 1 e 3 mL de Carrez 2, centrifugada e filtrada para balão de 50 mL e no final completado o volume com água destilada. A amostra obtida foi utilizada para determinação de lactose.

### **2.2 Determinação de lactose com 3,5-dinitrosalicílico**

A quantificação do teor de lactose nas amostras de leite e queijo foi realizada adicionando amostras em tubos de ensaio, seguido da adição de ácido clorídrico (HCl) 2M, hidróxido de sódio (NaOH) 2M e o reagente de 3,5-dinitrosalicílico e mantido em banho à 100 °C por 5 min. Após, os tubos foram colocados em banho de gelo por 5 min e adicionado 3 mL de água destilada. Os tubos foram agitados e realizada leitura em espectrofotômetro em comprimento de onda 546 nm (MILLER, 1959). Para quantificação do teor de lactose, uma curva padrão com diferentes concentrações de

lactose foi construída, conforme descrito no item linearidade de validação do método, e a partir da equação da reta, o teor de lactose foi calculado em mg de lactose por mL para leite ou em g para queijo.

## 2.3 Parâmetros de validação do método ADNS

### 2.3.1 Limites de detecção

Para determinar a menor concentração de lactose presente na amostra que poderá ser detectado pelo método, o limite de detecção (L.D) foi avaliado conforme ANVISA (2017). Após a obtenção da equação da reta, o limite de detecção foi calculado conforme equação 1.

$$LD = \frac{3.3 \times \sigma}{IC} \quad (1)$$

Sendo que: IC é a inclinação da curva de calibração e  $\sigma$  é o desvio padrão.

### 2.3.2 Limite de quantificação

O limite de quantificação (LQ), a menor concentração de lactose que poderá ser quantificada na amostra, será definida utilizando a inclinação da curva de calibração (ANVISA, 2017), e o cálculo será baseado na equação 2.

$$LQ = \frac{10 \times \sigma}{IC} \quad (2)$$

Sendo que: IC é a inclinação da curva de calibração e  $\sigma$  é o desvio padrão.

### 2.3.3 Linearidade

A linearidade do método foi avaliada através da construção da curva de calibração com padrão de lactose em concentrações crescentes (0,2 – 0,8 mg/mL). Através dos valores de absorbância obtidos, foi construído um gráfico de concentração (mg/mL) versus absorbância, utilizando-se como critério de aceitação um coeficiente de correlação maior ou igual a 0,990 de acordo com a ANVISA (2017). A partir dessa curva de calibração, foi calculado o coeficiente angular da reta e o seu ponto de intersecção no eixo y.

### 2.3.4 Precisão

A precisão do método foi avaliada através do desvio padrão da análise em triplicata das determinações do teor de lactose em amostras com concentração conhecida de lactose em leite (10 mg/mL) e queijo (2 mg/g).

### 2.3.5 Exatidão

A determinação da exatidão foi realizada com ensaios de recuperação. Para isso, foi realizada a extração e quantificação, em que foi realizada fortificando a amostra com 10 mg de lactose padrão. O percentual de recuperação foi expresso pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente (ANVISA, 2017), calculado conforme equação 3.

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{concentração média experimental}}{\text{concentração teórica}} \times 100 \quad (3)$$

## 2.4 Aplicação do Método

Com os parâmetros definidos na validação do método, o mesmo foi aplicado para avaliar o teor de lactose do queijo tipo Brie em quatro períodos durante a vida de prateleira (1, 8, 20 e 33 dias). Para isso, foi utilizada a mesma amostra de queijo para todos os testes, o que possibilitou observar o comportamento do teor de lactose no decorrer do tempo.

## 2.5 Análise dos dados

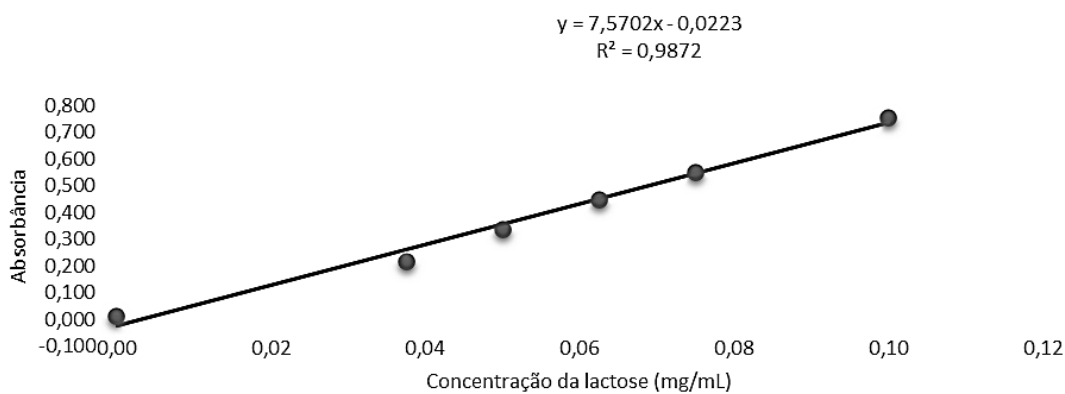
Os teores de lactose durante a maturação do queijo foram submetidos à análise de variância (ANOVA), com nível de significância de 5%, seguido do teste t-Student, utilizando Microsoft Excel. Os dados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1 Validação do método

A curva analítica foi elaborada a partir das concentrações crescentes do padrão de lactose (Figura 1), obtendo equação da reta  $y = 7,5702x + 0,0223$ . Já o coeficiente de correlação encontrado foi de 0,9935, o qual foi obtido calculando a raiz quadrada do coeficiente de determinação ( $R^2$ ), cumprindo assim as recomendações da RDC 166, que recomenda um coeficiente de correlação igual ou maior que 0,990. (ANVISA, 2017).

**Figura 1 - Curva analítica de Lactose**



Fonte: Os autores, 2023

Em relação aos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), o método apresentou LD e LQ de 0,0004 mg/mL e 0,001 mg/mL, respectivamente, estes valores são importantes, pois limites baixos permitem quantificar concentrações baixas do analito de interesse na amostra analisada. Método utilizando HPLC com detecção de índice de refração apresentou maiores LD (0,04 mg/mL) e LQ (0,12 mg/mL) (JAKŠIĆ et. al., 2022).

Em relação a exatidão do método, os resultados de recuperação para leite variaram de 95 à 113% com média de 103% e para o queijo tipo Brie de 62 à 73% com média de 68%. De acordo com a Anvisa, os resultados de exatidão para a faixa de trabalho, podem variar entre 80% a 120% (ANVISA, 2017). Portanto, o método para determinação de lactose em leite é adequado e para o queijo as recuperações foram baixas.

Conforme Simião et al. (2018), em seu estudo de recuperação de lactose em queijos (minas, mussarela, prato e parmesão), realizado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), obteve resultados de recuperação de lactose entre 89% e 105%. Já o método validado por Adhikari et al. (1991), avaliou a recuperação de açúcares redutores por espectrofotometria com reagente de ácido dinitrossalicílico (DNS) e os valores de recuperação ficaram entre 97% a 101%.

A diferença entre os dois métodos mencionados é que a CLAE separa a lactose e outros carboidratos, os quais são identificados e quantificados com um detector de índice de refração (ACQUARO JÚNIOR et al., 2013). Já o método espectrofotométrico, ADNS, composto amarelo, pode ser reduzido por açúcares redutores a um composto colorido avermelhado (VASCONCELOS; PINTO; ARAGÃO, 2013), com absorção máxima na região do visível em comprimento de onda 540 nm (GONÇALVES et al., 2010).

Os valores de recuperação de lactose em queijos podem variar amplamente dependendo do método de análise utilizado, pois cada método tem uma abrangência diferente em relação a detecção da quantidade de lactose na amostra, isso ocorre, pois, algumas técnicas são pouco eficientes (SILVA, 2020). O teor de lactose também pode mudar em relação ao tipo de queijo (ABIQ, 2022), bem como o tempo de prateleira que o queijo pode permanecer, ocorrendo modificações bioquímicas que impactam diretamente na quantidade de lactose no queijo (FOX, 2004).

A repetibilidade representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas de uma mesma amostra (RIBANI, 2004). Os valores de coeficiente de variação foram 11,9% para leite e 8,8% para queijo, pode-se verificar que a repetibilidade é satisfatória, e o desvio padrão relativo obtido está de acordo com a homogeneidade de diferentes amostras. Ou seja, é inferior para amostras sólidas (queijo) do que líquidas (leite).

### 3.2 Teor de lactose em leite e queijo tipo Brie

O leite utilizado para a produção do queijo apresentou 18,82 mg/mL de lactose, representando 1,9%. A lactose é o principal carboidrato do leite representando em 4% a 6% de sua composição, sendo um açúcar naturalmente encontrado, composto por glicose e galactose (SILVA, 2017).

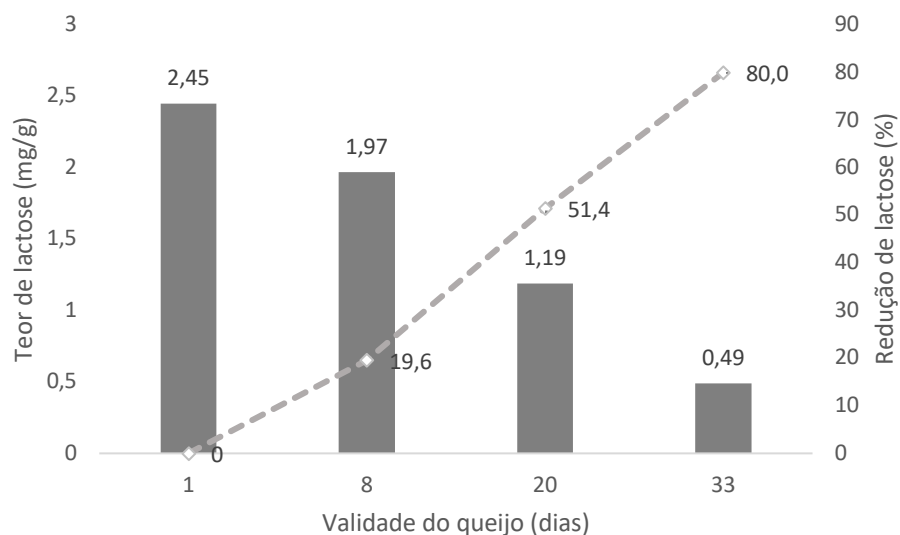
De acordo com o estudo realizado por Seibt et al. (2020), os teores de lactose identificados em diferentes queijos foram os seguintes: no queijo Minas Frescal, variaram de 1,89 a 1,45 g/100g; no queijo coalho, variaram de 1,61 a 1,35 g/100g; e na ricota, variaram de 2,29 a 1,99 g/100g. Esses resultados confirmam que nos queijos mais frescos os teores de lactose são mais elevados.

No momento inicial de maturação do queijo tipo Brie, foi identificado um teor de lactose de 2,45 mg/g ou 0,245 g/100g. O queijo tipo Brie após a sua produção é maturado por aproximadamente 10 dias, sendo que entre 5 e 7 dias forma uma camada fina de mofo e com cerca de 8 a 9 dias ocorre o pleno crescimento do fungo. A data de fabricação do queijo é definida como o primeiro dia após o tempo de maturação. No entanto, durante a vida de prateleira continua o processo de maturação, que promovem alterações na composição do produto (FURTADO, 2022).

O teor de lactose do queijo tipo Brie identificado no estudo foi de aproximadamente 0,3%. Geralmente os queijos curados de mofo branco produzidos no Brasil, podem ter uma variação em teor de lactose entre 0,0-7,5% (PEREIRA, 2020). Conforme estudo Gille et al. (2018) as concentrações de lactose em queijos macios (Brie, Tome, Camembert) obtiveram resultados abaixo de 0,1%.

O acompanhamento realizado com o queijo tipo Brie, teve o objetivo de avaliar o teor de lactose no período de 33 dias, de acordo com o processo do queijo, a redução de lactose deve ocorrer durante a vida de prateleira (DICKEL, JUNKES, 2017). Diante disso, foi possível constatar que ocorreu uma redução crescente de lactose durante a vida de prateleira do queijo, sendo ao final de 33 dias essa redução de 80% (Figura 2).

**Figura 2 - Teor de lactose no queijo tipo Brie durante a maturação**



Fonte: os autores, 2023

A redução de lactose é ocasionada pelo processo de transformação e fermentação do carboidrato em ácido láctico (LOURENÇO NETO, 2013). O processo de fermentação da lactose em ácido láctico durante a produção de queijo é conhecido como fermentação láctica. Nesse processo, as bactérias lácticas presentes no leite, como as espécies de *Lactococcus* e *Streptococcus*, consomem a lactose e a convertem em ácido láctico (LIMA et al., 2009).

Desta forma, os produtos que passam pelo processo de fermentação, são mais aceitos para quem tem intolerância à lactose, devido seu processo de produção, reduzindo aproximadamente de 25% a 50% da presença desse carboidrato (BORGES et al., 2010).

Conforme Carroccio et al. (2019), que avaliou o consumo de queijo maturados em homens adultos com autodiagnóstico de intolerância à lactose, os resultados mostraram que o consumo de queijo não causou sintomas de intolerância à lactose. Já para Facioni et al., (2020), que realizou revisão dos vários aspectos da intolerância à lactose, incluindo o consumo de queijo, destacaram que alguns tipos de queijos podem ser bem tolerados, devido à menor quantidade de lactose residual.

#### 4. Conclusão

O método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (ADNS) mostrou-se satisfatório e adequado para a quantificação da lactose em amostras de leite e queijo. Esse método permite uma análise precisa e confiável dos teores de lactose presentes nos produtos lácteos. O queijo tipo Brie com 33 dias de vida de prateleira apresentou baixo teor de lactose, desta forma, o estudo também demonstrou que pessoas com baixa intolerância à lactose podem realizar o consumo de queijos tipo Brie. Com isso, não é

necessário o desenvolvimento de linhas de produtos "zero lactose" para o queijo tipo Brie, pois a maturação do queijo promove a redução deste carboidrato.

### Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio do Projeto de Pesquisa, Desenvolvimento & Inovação em Queijos Finos – Biopark e da Associação de Ensino, Pesquisa e Extensão Biopark – Biopark Educação.

### Referências

ABIQ – Associação Brasileira das Indústrias de Queijo. **Existe Queijo sem lactose?** Disponível em:

<[https://www.abiq.com.br/nutricao\\_ler.asp?codigo=1990&codigo\\_categoria=4&codigo\\_subcategoria=41](https://www.abiq.com.br/nutricao_ler.asp?codigo=1990&codigo_categoria=4&codigo_subcategoria=41)> Acesso em 29 de mai. 2023

ACQUARO, JR V. R.; MADEIRA, T. B.; CASTILHO, D. C.; WATANABE, L. S.; BOVOLENTA, Y. R.; NIXDORF S. L. 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, 2013. p. 137-145.

ADHIKARI, Ak; SAHAI, D; MATHUR, On. **A rapid spectrophotometric method for quantitative determination of lactulose in heated milk and milk products.** Le Lait, 1991, 71 (5), pp.555-564, 1991. Disponível em: <<https://hal.science/hal-00929267>> Acesso em 30 de mai. 2023.

BORGES, T.; FERREIRA, I.; PINHO, O.; TRINDADE, E.; PISSARRA, S.; AMIL, J. Quanta lactose há no meu iogurte? **Acta Pediátrica Portuguesa**, 2010. p. 41(2), 75-78.

BRANCO, M. de S. C.; DIAS, N. R.; FERNANDES, L. G. R.; BERRO, E.; SIMIONI, P. U.; Classificação Da Intolerância À Lactose: Uma Visão Geral Sobre Causas e Tratamentos. **Revista De Ciência Médica**. 2017; 26(3), 117-125. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.24220/2318-0897v26n3a3812>. Acesso em: 18 de ago. de 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária – (ANVISA). **Resolução Da Diretoria Colegiada - RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017.** Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 de jul. de 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Secretaria de Defesa Agropecuária (MAPA). **Métodos Oficiais para Análise de Produtos de Origem Animal.** Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília, 2022.

C.D.L.C. Lima, L.A. Lima, M.M.O.P. Cerqueira, E.G. Ferreira, C.A. Rosa. **Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal produzido na região da Serra do Salitre, Minas Gerais** <https://doi.org/10.1590/S0102-09352009000100037> Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.61, n.1, p.266-272, 2009. Disponível em: <[://doi.org/10.1590/S0102-09352009000100037](https://doi.org/10.1590/S0102-09352009000100037)> Acesso em: 19 mai. 2023.



Carroccio, A., et al. (2019). **Cheese consumption in adult men with self-reported lactose intolerance: a randomized, cross-over study**. *Nutrients*, 11(2), 425. doi: 10.3390/nu11020425

DANTAS, A.; VEREUCK, S.; PRUDENCIO, E. S. Ciência e tecnologia de leite e produtos lácteos sem lactose. Ponta Grossa. **Atena Editora**, 2019.

DICKEL, Camilla; JUNKES, Juliane Kowalski. **Avaliação do teor de lactose e sódio em queijos mussarela e colonial**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

FACIONI, Maria Sole; RASPINI, Benedetta; PIVARI, Francesca; DOGLIOTTI, Elena; CENA, Hellas. **Manejo nutricional da intolerância à lactose: a importância da dieta e da rotulagem dos alimentos**. *Journal of Translational Medicine*, 18:260, 2020. doi: 10.1186/s12967-020-02429-2

FDA. **Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation**. Rockville, MD: **Food and Drug Administration**, 2001. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/70858/download>. Acesso em: 20 abr. 2023.

FURTADO, M. M. **Receituário Brasileiro de Queijos**. 1. Ed. Valinhos, SP: Ed. Do Autor, 2022.

FOX, P. F. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**. v. 1. General Aspects. Published by Chapman e Hall, 2-6 Boundary Row. 2 nd. ed. 577p. 1993

GILLE, Doreen e cols. **Deteção de lactose em produtos com baixo teor de lactose**. *International Dairy Journal*, v. 83, p. 17-19, 2018.

GONÇALVES, C.; RODRIGUEZ-JASSO, R. M.; GOMES, N.; TEIXEIRA, J. A.; BELO, I. Adaptation of dinitrosalicylic acid method to microtiter plates. *Analytical Methods*. **Royal Society of Chemistry**. London, v. 2. 2010. p. 2046-2048

JAKŠIĆ, Sandra et al. **Determination of lactose in milk and dairy products by HPLC-RID method**. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* 2022, 28 (1), 5-10, 2022.

Lima, C. D. L. C., Lima, L. A., Cerqueira, M. M. O. P., Ferreira, E. G., & Rosa, C. A. **Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal produzido na região da Serra do Salitre, Minas Gerais**. *Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia*, 61, 266-272, 2009.

LOURENÇO NETO, J. P. M. **Queijos: aspectos tecnológicos**. **Master Graf**, 2013. 270 p.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, v. 31, n. 3, 1959. p. 426-429.

OLIVEIRA, M. N. **Tecnologia de produtos lácteos funcionais**. São Paulo. **Atheneu**, 2009.

PEREIRA, Antônio Carlos Prestes et.al., **Assessment of physicochemical, textural and microbiological properties of brazilian white mold surface-ripened cheeses: a technological approach.** Ciência Rural, v.50, n.1, 2020.

RIBANI, Marcelo e cols. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química nova**, v. 27, p. 771-780, 2004.

SEIBT, Ana Carolina Mendes Dias et al. **Estimativa Dos Teores De Lactose E Caracterização Físico-Química De Quatro Tipos De Queijos Comerciais.** Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, v. 12, n. 2, 2020.

SILVA, C. M. E. A Intolerância à Lactose e as Consequências na Absorção do Cálcio. **Revista Eletrônica Atualiza Saúde.** 6(6), 29-35. Salvador, 2017. Disponível em: <https://atualizarevista.com.br/article/intolerancia-lactose-e-as-consequencias-na-absorcao-do-calcio-v-6-n-6/>. Acesso em: 20 de ago. 2022.

SILVA, Franceline Iaguczeski da. **Teor de lactose e caracterização físico-química de queijo de massa lavada durante a maturação.** 2019.

SILVA, Karina Coelho Moreira da et al. Determinação da lactose ante às metodologias contemporâneas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 75, n. 1, p. 59-71, 2020.

SIMIÃO, Suellen Cristina Gouvêa et.al., **Desenvolvimento e Validação De Metodologia Para Determinação De Lactose Em Produtos Lácteos Processados Qualificados Como “Zero Lactose”.** 12º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica, Campinas-SP, ISBN 978-85-7029-145-5, 2018.

SOUZA, H. F.; BORGES, L. A.; SOARES, S. B.; BRANDI, I. V. **Uso do método ácido 3,5- dinitrosalicílico (ADNS) para Quantificação de lactose em alimentos e suas aplicações.** FEPEG. 2018. Disponível em: <http://www.fepeg2018.unimontes.br/anais/download/5f92a179-f6b0-431d-b449-ec5e1e4f3bbc>. Acesso em: 18 de ago. 2022.

VASCONCELOS, N. M.; PINTO, G. A. S.; DE ARAGAO, F. A. S. **Determinação de açúcares redutores pelo ácido 3, 5-dinitrosalicílico: histórico do desenvolvimento do método e estabelecimento de um protocolo para o laboratório de bioprocessos.** Embrapa Agroindústria Tropical-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E), 2013.