



Determinação de glicídios redutores em lactose pelo Método de Lane-Eynon em Leite

1 Escopo

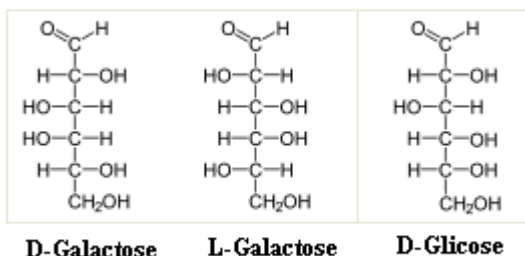
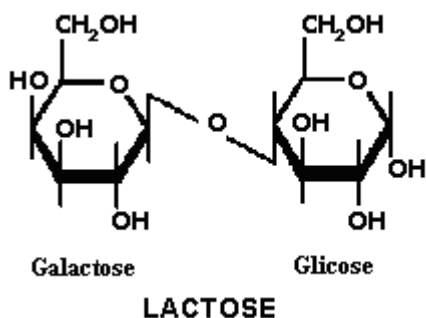
Este documento tem como objetivo descrever os procedimentos para o ensaio "Determinação de Glicídios Redutores em Lactose pelo Método de Lane-Eynon em Leite". É aplicável para leite fluido e desidratado.

2 Fundamentos

A lactose é o principal carboidrato presente no leite dos mamíferos, representando aproximadamente a metade dos sólidos não gordurosos. Este carboidrato, fundamental no processo de acidificação do leite (fermentação e maturação), contribui com o valor nutricional e está relacionada com a textura, cor e sabor do produto. A sua determinação é importante para o estabelecimento do valor nutritivo e composição centesimal do leite e, conseqüente enquadramento nos padrões de qualidade. Em adição à lactose, já foram detectados no leite uma série de carboidratos em pequeníssimas quantidades como a glicose (0,02 a 0,15%) e quantidades traços de galactose, açúcares fosfatos, amino açúcares, entre outros.

A primeira etapa da determinação dos glicídios redutores em lactose consiste na clarificação da amostra com acetato de zinco e ferrocianeto de potássio. O teor de açúcar é estimado pela determinação do volume da solução de açúcar presente na amostra necessário para reduzir completamente uma medida volume de solução de Fehling com concentração conhecida.

A lactose é um dissacarídeo formado por dois carboidratos menores, glicose e a galactose (monossacarídeos) unidos por uma ligação glicosídica.



Quimicamente, os carboidratos glicose e galactose são definidos como poli-hidroxi-aldeídos. Recebem esta denominação porque apresentam, na sua estrutura, vários grupos

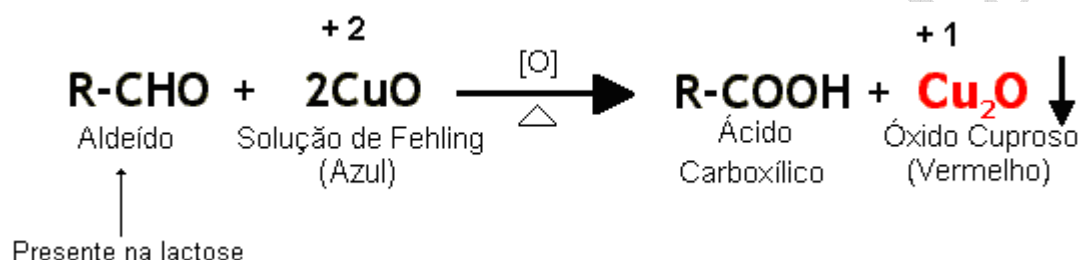


Determinação de glicídios redutores em lactose pelo Método de Lane-Eynon em Leite

hidroxilas (-OH) e um grupo aldeído (-CHO). Compostos com estas características são capazes de reduzir soluções alcalinas como a solução de Fehling e chamados de glicídios redutores.

A solução de Fehling é um reagente formado por íon bivalente de cobre (Cu^{+2}) complexado com tartarato em meio alcalino. A solução a ser testada é aquecida com a solução de Fehling, na presença de um indicador. O poder redutor dos carboidratos baseia-se na oxidação destes para ácidos aldônicos e redução do reagente oxidante (cobre II). A redução provoca formação do óxido de cobre I, precipitado de cor vermelho tijolo.

- Em termos gerais temos:



3 Reagentes, padrões e materiais

3.1 Reagentes:

- 1) Álcool isoamílico;
- 2) Solução de azul de metileno ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) a 1 % (m/v);
- 3) Solução de ferrocianeto de potássio trihidratado ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) a 15 % (m/v);
- 4) Solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 40 % (m/v);
- 5) Solução de sulfato de zinco heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ou solução de acetato de zinco dihidratado ($(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) a 30 % (m/v);
- 6) Solução de Fehling A;
- 7) Solução de Fehling B.

Preparo dos reagentes:

Fehling A:

- a) dissolver em água 34,65 g de sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) p.a.;
- b) transferir para um balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume;

Fehling B:

- a) dissolver 173 g de tartarato duplo de potássio e sódio ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) p.a., em solução de hidróxido de sódio (NaOH) p.a. 125 g em 300 mL,



Determinação de glicídios redutores em lactose pelo Método de Lane-Eynon em Leite

b) completar o volume para 1000 mL e deixar em repouso por 24 horas.

Padronização da solução de Fehling:

- a) pesar exatamente 0,5 g de glicose ($C_6H_{12}O_6$) p.a., previamente seca em estufa a cerca de 70° C, durante 1 hora;
- b) Transferir para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de água. Dissolver bem e completar o volume. A solução padrão de glicose para titular a solução de Fehling deve ser preparada no dia da padronização.
- c) Colocar na bureta a solução padrão de glicose.
- d) Transferir, com pipeta volumétrica, 10 mL de cada uma das soluções de Fehling A e B para erlenmeyer de 250 mL. Adicionar 40 mL de água e aquecer até ebulição.
- e) Gotejar a solução padrão, sem agitação até quase o final da titulação, mantendo a ebulição. Adicionar 1 gota de solução de azul de metileno a 1 % e completar a titulação até descoramento do indicador. O tempo da titulação não pode ultrapassar a 3 minutos. O final da titulação é em torno de 10 mL da solução padrão de glicose.

O título da solução de Fehling é obtido pelo cálculo:

$$T = \frac{V \times m}{100}$$

Onde:

V = volume gasto de glicose na titulação, em mL;

m = massa da glicose, em gramas.

3.2 Materiais

- 1) Balão volumétrico de 250 mL;
- 2) Béquer de 50 mL ou similar;
- 3) Bastão de vidro
- 4) Bureta de 25 ou 50 mL;
- 5) Erlenmeyer de 250 mL;
- 6) Funil;
- 7) Papel de filtro qualitativo;
- 8) Pipeta volumétrica de 5 mL;
- 9) Pipeta graduada de 10 mL ou similar;
- 10) Proveta de 50 mL ou similar;



Determinação de glicídios redutores em lactose pelo Método de Lane-Eynon em Leite

- 11) Tripé;
- 12) Tela de amianto ou similar;
- 13) Suporte universal;
- 14) Garra metálica.

4 Equipamentos

- 1) Balança analítica;
- 2) Bico de Bunsen.

5 Precauções analíticas

- 1) Preparar a solução de Fehling (A + B) somente no momento do uso.
- 2) O aquecimento da solução é fator crucial na determinação: se a fervura não for permanente durante a titulação o ar oxida o azul de metileno, mantendo-o na coloração azul, o que facilmente induz a erro quanto ao ponto final da titulação.
- 3) Ponto final da titulação: o ponto de viragem do indicador azul de metileno muda a cor da solução de azul para incolor no ponto de viragem. A solução fica incolor, mas como ocorre a formação de um precipitado de cor tijolo, a cor visível da viragem é de azul para vermelho tijolo. A adição do indicador azul de metileno é feita somente próximo ao ponto de viragem. O descoramento é quase instantâneo e a ação do indicador é reversível, já que a adição de traços de sais de cobre restaura sua cor imediatamente. A titulação do teor de lactose deve ser realizada entre 2 e 3 minutos (desde o início do gotejamento do filtrado até o descoramento do indicador).
- 4) Na determinação de glicídios redutores pelo método de Lane-Eynon não é possível diferenciar entre a lactose, glicose e a galactose, pois são todos açúcares redutores. Desta forma, os açúcares presentes em leites com baixo teor de lactose não podem ser diferenciados por esta técnica.

6 Procedimentos

- 1) Pesar exatamente entre 10 à 20 g de leite fluido ou entre 2,0 à 2,5 g de leite em pó.
- 2) Transferir quantitativamente a amostra para um balão volumétrico de 250 mL com auxílio de um bastão de vidro e água.



Determinação de glicídios redutores em lactose pelo Método de Lane-Eynon em Leite

- 3) Adicionar 6 mL de solução de ferrocianeto de potássio a 15 % e 6 mL de solução de sulfato ou acetato de zinco a 30 %. Agitar (se formar espuma, adicionar 1 gota de álcool isoamílico) e completar o volume com água.
- 4) Deixar sedimentar (entre 30-60 minutos) e filtrar em papel de filtro recolhendo o filtrado em erlenmeyer.
- 5) Transferir o filtrado obtido para uma bureta de 25 ou 50 mL.
- 6) Pipetar volumetricamente 5 mL da solução de Fehling A e 5 mL de solução de Fehling B para um erlenmeyer (fazer em duplicata).
- 7) Adicionar cerca de 40 mL de água. Aquecer até a ebulição e gotejar a solução da amostra, sem agitação, até que o líquido sobrenadante fique levemente azulado. Manter a ebulição e adicionar 1 gota de solução de azul de metileno a 1 % e continuar até descoloração do indicador.

Obs.: Ver precauções analíticas

7 Resultados

Os dados brutos obtidos na determinação glicídios redutores em lactose são registrados no formulário “Dados brutos da análise de leite” ou “Dados brutos da análise de leite desidratado” – anexos do POP POA/06 e inseridos na planilha eletrônica IT POA/ 04 para que o resultado seja calculado automaticamente.

O cálculo é obtido através da seguinte fórmula,

$$\% \text{ de glicídios redutores em lactose} = \frac{100 \times 250 \times (T/2) \times 1,39}{V \times m}$$

Onde:

T = título da solução de Fehling;

V = volume de amostra gasto na titulação, em mL;

m = massa da amostra em gramas

1,39 = fator de conversão da glicose em lactose.

Como a determinação é feita em duplicata, expressar o resultado da média com uma casa decimal.



Determinação de glicídios redutores em lactose pelo Método de Lane-Eynon em Leite

7. 1 Critérios para aceitação do ensaio

- a) como a etapa de titulação é feita em duplicata, se houver diferença entre as mesmas maiores do que 3% do resultado final da análise, repetir a titulação. Se a diferença persistir, repetir todo procedimento com uma nova alíquota da amostra.
- b) Outro critério que é considerado para repetição do ensaio é o fechamento centesimal dos componentes do leite. A soma dos teores de açúcares (lactose), proteínas e resíduo mineral fixo deve ser próximo ao extrato seco desengordurado; quando a diferença entre estes resultados for superior a 5%, a determinação dos glicídios redutores em lactose é repetida para confirmação.
- c) Valores muito baixos de lactose necessitam de confirmação (abaixo de 10% do valor de referência).

Na legislação brasileira, o teor mínimo de lactose no leite fluido é de 4,3%.

8 Arquivamento dos registros

Os formulários utilizados nesta metodologia são arquivados conforme procedimento descrito no POP POA/06 – Controle de Itens de ensaio Leite e Derivados Lácteos e IT POA/04 – Uso de Planilha Eletrônica na Revisão de Cálculos de Dados Brutos nas Análises de Leite, Derivados Lácteos, Água e Mel.

9 Referências

- BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Métodos Analíticos Físico-Químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos**. Instrução Normativa 68, 12/12/06. Brasília: Ministério da Agricultura, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agropecuária. **RIISPOA/Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Brasília: MAPA/SDA/DIPOA, 2007.

10 Anexos

Não aplicável.



Determinação de glicídios redutores em lactose pelo Método de Lane-Eynon em Leite

11 Alterações

Não aplicável.

12 Responsabilidades

É de responsabilidade do RT ou seu substituto do POA assegurar que os analistas que utilizarem este MET tenham sido treinados e capacitados para sua execução e o mesmo esteja sendo corretamente seguido.

Elaboração/Revisão:	Aprovação:	Verificação:
Rita Beatriz Andrade – POA	Tiago Charão de Oliveira – POA	Juliana Nichele Kich – UGQ
Data: 16/04/2013	Data: 19/04/2013	Data: 22/04/2013