

Determinação de galactose, glicose e lactose em leite por HPLC

Michele F. Resende (PG), Maria A. C. Matos (PQ)

NUPIS – Núcleo de Pesquisa em Instrumentação e Separação Analíticas, Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora – MG

michelefabri@oi.com.br e maria.auxiliadora@ufjf.edu.br

Palavras Chave: carboidratos, leite, PABA, HPLC.

Introdução

A técnica mais difundida para determinação de carboidratos em leite é a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por índice de refração. Porém, este método apresenta desvantagens, por ser pouco seletivo e apresentar a impossibilidade de realizar eluição por gradiente. Neste trabalho, foi realizada a determinação simultânea de galactose (Gal), glicose (Gli) e lactose (Lac) em amostras de leite por HPLC com detecção na região ultravioleta utilizando reação de derivatização pré-coluna.

Resultados e Discussão

As medidas foram realizadas no HPLC Agilent 1100 series, detector UV-Vis MWD, injetor manual (20 μ L) e coluna de fase reversa C-18 Zorbax ODS. O derivatizante utilizado foi o Ácido p-Aminobenzóico (PABA)¹. Parâmetros analíticos como fluxo, composição da fase móvel e comprimento de onda de detecção foram estudados para otimização do método. Os solventes orgânicos (metanol e acetonitrila) e soluções tampão fosfato em diferentes valores de pH foram testadas para compor a fase móvel. A melhor condição foi estabelecida com eluição isocrática, usando como fase móvel a mistura de metanol/tampão fosfato pH 3,0 (0,5:99,5), fluxo de 1,7 mL/min e detecção em 315 nm. O tratamento da amostra e o procedimento da reação de derivatização também foram estudados e otimizados^{2,3}. As amostras foram tratadas com HCl concentrado e etanol 95%, a seguir centrifugadas por 10 min. O resíduo foi descartado, sendo o sobrenadante recolhido e submetido à reação de derivatização. Para tanto, adicionou-se a solução de PABA em DMSO e cianoboridreto de sódio, utilizado como catalisador. A mistura reacional foi levada ao banho ultratermostático a 80° C por 30 min. Em seguida, as amostras foram convenientemente diluídas em tampão fosfato pH 3,0, filtradas (0,45 μ m) e injetadas no HPLC. Foram analisadas amostras de leite integral, desnatado e light comercializadas na cidade de Juiz de Fora (TABELA 1).

Tabela 1. Concentração de Gli, Gal e Lac em amostras de leite comercializadas na cidade de Juiz de Fora, MG.

Leite	Amostra	Concentração (g/200mL)		
		Gli	Gal	Lac
90% menos lactose	A	3,48	3,71	0,47
	B	4,07	5,11	0,69
Desnatado	A	0,03	0,02	10,88
	B	0,04	0,04	9,50
Integral	longa vida A	0,02	0,02	8,50
	longa vida B	0,04	0,05	11,22
	in natura C	0,02	0,04	11,32

LQ = limite de quantificação.

A curva analítica mostrou-se linear na faixa 0,100 a 0,500 g/L para Gli e Gal e 0,200 a 1,00 g/L para Lac, com os coeficientes de correlação: 0,99805 (Gli), 0,99992 (Gal) e 0,99800 (Lac). Os limites de detecção e quantificação obtidos foram: 0,002 e 0,006 g/L para Gal; 0,002 e 0,008 g/L para Gli e 0,037 e 0,127 g/L para Lac. A recuperação das amostras fortificadas variou de 99 a 109% para Gal; de 73 a 86 % para Gli e 85 a 92 % para Lac. Os valores de desvio-padrão relativo variaram de 1,4% a 6,8 %.

Conclusões

A metodologia proposta apresentou-se linear na faixa de concentração estudada. O método mostrou-se seletivo, uma vez que, através da reação de derivatização, pudemos analisar os carboidratos em questão simultaneamente e quantificá-los em uma matriz complexa. Os valores de concentração obtidos para os carboidratos nas amostras analisadas estão de acordo com os valores fornecidos pelos fabricantes.

Agradecimentos

CAPES, CNPq, FAPEMIG e PROPESQ/UFJF

¹ Meyer, A.; Raba, C. e Fischer, K.; *Anal. Chemistry*; **2001**, 73, 2377-2382.

² Ferreira, I.M.P.L.V.O.; Gomes, A.M.P. e Ferreira, M.A. *Carbohydrate Polymers*. **1998**, 37, 225-229.

³ Dornellas, R. M. *et al.*, *Anais da 32ª RASBQ, Fortaleza* **2009**.