

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

TESE APRESENTADA A FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS DA  
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO  
DE MESTRE EM CIÊNCIA DA NUTRIÇÃO.

**TOLERANCIA A LACTOSE EM  
ADULTOS: DOSE LIMITE E USO  
DE LEITE COM BAIXO TEOR  
DE LACTOSE.**

**ERLY CATARINA DE MOURA**

ORIENTADOR: Prof.<sup>ª</sup> Dra. DÉBORA DE QUEIROZ TAVARES

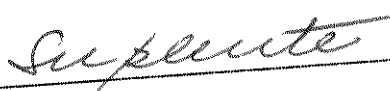
32/89

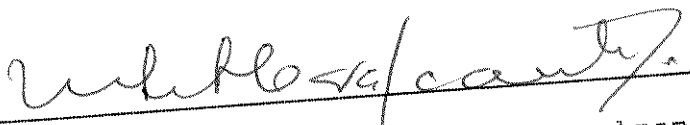
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. SALVADOR MASSAGUER ROIG

Parecer  
Este exemplar corresponde a redação  
final da tese defendida por Erly Cata-  
rina de Moura e aprovada pela co-  
missa julgadora em 13.12.89.  
Cps, 13 de dezembro de 1989.  
Ass. Dr. Tamy

BANCA EXAMINADORA

  
Prof.<sup>a</sup>-Dra. Débora de Queiroz Tavares  
(orientadora)

  
Prof.Dr. Salvador Massaguer Roig  
(co-orientador)

  
Prof.<sup>a</sup>-Dra. Maria Lúcia Ferrari Cavalcanti  
(membro)

  
Prof.Dr. José Garrofe Dórea  
(membro)

***Ao Manfredo***

## AGRADECIMENTOS

A Professora Doutora Débora de Queiroz Tavares pela minuciosa revisão e gratificante orientação do trabalho.

Ao Professor Doutor Salvador Massaguer Roig pela co-orientação e preparo do leite.

Ao Professor Guido A. Orozco-Durán do Instituto de Ciências Biomédicas da USP pelo incentivo e discussão do trabalho.

Ao Professor Manfredo Harri Tabacniks do Instituto de Física da USP pela compreensão, auxílio e discussão em todos os momentos do trabalho.

A Professora Doutora Helga Verena Leoni Maffei, Professor Adjunto Livre-Docente, e ao Senhor Sebastião Bruno Neto, Técnico de Laboratório Nível I, do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da UNESP pela colaboração na realização do teste de hidrogênio.

As Professoras Silvana Mariana Srebernich e Rita de Cássia Barnabé da Faculdade de Ciências Médicas da PUCCAMP pelo auxílio na execução dos testes sensoriais.

Ao Departamento de Bioquímica da PUCCAMP pela colaboração no desenvolvimento dos testes glicêmicos.

A Professora Gláucia Maria Pastore pelo estímulo e discussão do trabalho.

A Cláudia, Mirna, João, Ranulfo, Vivaldo e, especialmente, à Janice Campos Godoy Ilha, pelo preparo do leite.

A Yara Fagnani Honório pela colaboração nos estudos preliminares e preparo do material para os testes.

Aos alunos e colegas, voluntários nos testes, meu agradecimento especial pela colaboração para a realização deste trabalho.

A PUCCAMP pela implantação da carreira docente, o que possibilitou a conclusão deste trabalho.

A CAPES-PICD pela concessão de bolsa de estudos durante o período de realização da tese.

A ABIA pelo auxílio para a impressão da tese.

## ÍNDICE

|                                                     |    |
|-----------------------------------------------------|----|
| 1. Resumo.....                                      | 1  |
| 2. Summary.....                                     | 2  |
| 3. Introdução.....                                  | 3  |
| 4. Objetivos.....                                   | 23 |
| 4.1. Gerais.....                                    | 23 |
| 4.2. Específicos.....                               | 23 |
| 5. Material e Métodos.....                          | 24 |
| 5.1. População Estudada.....                        | 24 |
| 5.2. Hábito de Consumo.....                         | 25 |
| 5.3. Teste de Glicemia.....                         | 26 |
| 5.3.1. Coleta de Sangue e Separação de Plasma.....  | 26 |
| 5.3.2. Preparo da Reação.....                       | 27 |
| 5.3.3. Medida da Glicemia.....                      | 27 |
| 5.4. Sintomas de Baixa Hidrolisação de Lactose..... | 28 |
| 5.5. Leite com Baixo Teor de Lactose .....          | 28 |
| 5.6. Análise Sensorial.....                         | 29 |
| 5.6.1. Teste de Escala Hedônica.....                | 30 |
| 5.6.2. Teste de Preferência.....                    | 30 |
| 5.7. Teste do H <sub>2</sub> Pulmonar.....          | 30 |
| 5.7.1. Coleta de Ar Pulmonar.....                   | 31 |
| 5.7.2. Medida de H <sub>2</sub> Excretado.....      | 31 |
| 6. Resultados.....                                  | 32 |
| 6.1. Hábito de Consumo.....                         | 32 |
| 6.2. Resposta Glicêmica.....                        | 33 |

|                                                     |    |
|-----------------------------------------------------|----|
| 6.3. Resposta Sintomática...                        | 36 |
| 6.4. Resposta individual.....                       | 39 |
| 6.5. Leite com Baixo Teor de Lactose .....          | 52 |
| 6.6. Análise Sensorial.....                         | 53 |
| 6.7. Resposta Metabólica.....                       | 54 |
| 7. Discussão.....                                   | 57 |
| 8. Conclusões.....                                  | 63 |
| 9. Recomendação.....                                | 64 |
| 10. Referências Bibliográficas.....                 | 65 |
| 11. Anexo 1 - Teste de Tolerância à Lactose.....    | 82 |
| 12. Anexo 2 - Teste de H <sub>2</sub> Pulmonar..... | 83 |
| 13. Anexo 3 - Teste de Escala Hedônica.....         | 84 |
| 14. Anexo 4 - Teste de Preferência.....             | 85 |

#### ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Síntese da lactose.....                                                                                     | 4  |
| Figura 2 - Via de conversão da galactose em glicose....                                                                | 6  |
| Figura 3 - Distribuição dos indivíduos conforme<br>incremento de glicemia relacionado com<br>a dose de lactose.....    | 34 |
| Figura 4 - Variação média da glicemia conforme<br>tempo e dose ingerida de lactose.....                                | 35 |
| Figura 5 - Distribuição dos indivíduos com sintomas de<br>baixa hidrolisação conforme dose ingerida de<br>lactose..... | 37 |

|                                                                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 6 - Distribuição dos indivíduos conforme<br>pontuação de sintomas de baixa hidrolisação<br>e dose ingerida de lactose.....                              | 38 |
| Figura 7 - Resposta glicêmica de indivíduos absorvedores<br>de doses antifisiológicas de lactose.....                                                          | 40 |
| Figura 8 - Resposta glicêmica de indivíduos absorvedores<br>de doses fisiológicas de lactose.....                                                              | 41 |
| Figura 9 - Resposta glicêmica de indivíduo mau<br>absorvedor de lactose.....                                                                                   | 42 |
| Figura 10- Resposta sintomática de intensidade crescente<br>conforme o aumento da dose de lactose.....                                                         | 43 |
| Figura 11- Resposta sintomática de intensidade crescente<br>a partir de determinada dose de lactose....                                                        | 44 |
| Figura 12- Resposta glicêmica e sintomática conforme<br>a dose ingerida de lactose de indivíduos<br>absorvedores e tolerantes até 50 gramas<br>de lactose..... | 46 |
| Figura 13- Resposta glicêmica e sintomática conforme<br>a dose ingerida de lactose de indivíduos<br>absorvedores e tolerantes até 40 gramas<br>de lactose..... | 47 |
| Figura 14- Resposta glicêmica e sintomática conforme<br>a dose ingerida de lactose de indivíduos<br>absorvedores e tolerantes até 30 gramas<br>de lactose..... | 48 |



|                                                                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 15- Resposta glicêmica e sintomática conforme a dose ingerida de lactose de indivíduos absorvedores e tolerantes até 20 gramas de lactose..... | 49 |
| Figura 16- Resposta glicêmica e sintomática conforme a dose ingerida de lactose de indivíduos absorvedores e tolerantes até 10 gramas de lactose..... | 50 |
| Figura 17- Resposta glicêmica e sintomática conforme a dose ingerida de lactose de indivíduos maus absorvedores e intolerantes à lactose.....         | 51 |
| Figura 18- Frequência acumulada dos indivíduos conforme limiar de hidrolisação indireta de lactose.....                                               | 52 |
| Figura 19- Distribuição de indivíduos conforme frequência de consumo de leite.....                                                                    | 53 |
| Figura 20- Variação do H <sub>2</sub> pulmonar conforme o tipo de leite.....                                                                          | 55 |
| Figura 21- Variação média do H <sub>2</sub> pulmonar conforme o tempo e tipo de leite ingerido.....                                                   | 56 |

#### ÍNDICE DE QUADROS

|                                                                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Quadro 1 - Avaliação da glicemia: relação de autores conforme dose de lactose preconizada, tipo de sangue, intervalos e duração de tempo para a coleta das amostras..... | 14 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Quadro 2 - Avaliação do H <sub>2</sub> pulmonar: relação de autores<br>conforme dose de lactose preconizada,<br>intervalo e duração de tempo para a coleta<br>das amostras..... | 17 |
| Quadro 3 - Propriedades de algumas lactases<br>microbianas.....                                                                                                                 | 21 |
| Quadro 4 - Frequência de consumo de leite.....                                                                                                                                  | 25 |
| Quadro 5 - Sintomas de baixa hidrolisação de lactose..                                                                                                                          | 28 |
| Quadro 6 - Relação de indivíduos conforme pontuação<br>de hábito de consumo de leite integral e<br>fermentado.....                                                              | 32 |

#### ÍNDICE DE TABELAS

|                                                                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 - Distribuição dos indivíduos conforme<br>tempo de pico de glicemia e dose ingerida<br>de lactose..... | 36 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## 1. RESUMO

Dose limite de tolerância à lactose foi investigada em dezoito indivíduos adultos. Doses crescentes de lactose foram ministradas e glicemia foi determinada antes, 20 e 40 minutos após a ingestão de lactose. Sintomas de baixa hidrolisação de lactose foram recordados no dia seguinte. Leite cuja concentração de lactose foi reduzida por beta-galactosidase foi submetido a análise sensorial por 57 sujeitos. Avaliação metabólica deste leite foi realizada pelo teste de excreção de hidrogênio pulmonar com 4 indivíduos após ingestão de leite com baixo teor de lactose e leite integral.  $H_2$  foi determinado antes, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos após a ingestão de 300 ml de leite. Os resultados indicam que a dose limite de tolerância está próxima da ingesta dietética habitual. O estudo mostra, ainda, que o leite com baixo teor de lactose apresenta boa avaliação sensorial e metabólica quando comparado ao leite integral. Este trabalho sugere o uso de leite com baixo teor de lactose para indivíduos intolerantes e pacientes com deficiência secundária de lactose.

## 2. SUMMARY

Dose limit of tolerance for lactose were investigated in eighteen adult subjects. Increasing lactose doses were given and blood glucose was determined prior to, and 20 and 40 minutes after ingestion. Symptoms of low lactose hydrolysis were registered the day after. Milk with lactose concentration reduced by beta-galactosidase was submitted to sensory analysis by 57 subjects. Metabolic evaluation was realized by hydrogen breath test with four subjects after low-lactose milk, and whole milk, ingestion.  $H_2$  was determined prior to, and 30, 60, 90, 120, 150 and 180 minutes after ingestion of 300 ml of milk. The results indicate that dose limit of tolerance for lactose approximates the usual dietary intake. The study also showed that low-lactose milk presents good sensory acceptance and metabolic response when compared with whole milk. Based on the results, the use of low-lactose milk is recommended for intolerant subjects and secondary deficient lactase patients.

### 3. INTRODUÇÃO

O leite materno é o alimento ideal para os lactentes, devido às suas propriedades espécie-específicas. Todavia, o leite, de uma maneira geral, tem sido recomendado para todas as faixas etárias por ser considerado um alimento de alto valor nutritivo. No mercado nacional o leite de vaca é o mais disponível contendo, aproximadamente, 87,0% de água, 4,9% de lactose, 3,5% de proteínas, 3,5 a 3,7% de gorduras e 0,7% de cinzas (WEBB e colaboradores, 1978).

A lactose (beta-galactosil-1-4-glicose), dissacarídeo característico do leite, responsável por cerca de 30% do aporte calórico total no leite de vaca, é sintetizada na glândula mamária a partir da glicose sanguínea (figura 1). Nesta reação, a  $\alpha$ -lactoalbumina e a galactosil transferase desempenham papel fundamental na formação do complexo lactoalbumina-galactosil transferase (lactose sintetase), que cataliza a última etapa desta reação (HARPER e colaboradores, 1982; SGARBIERI, 1987).

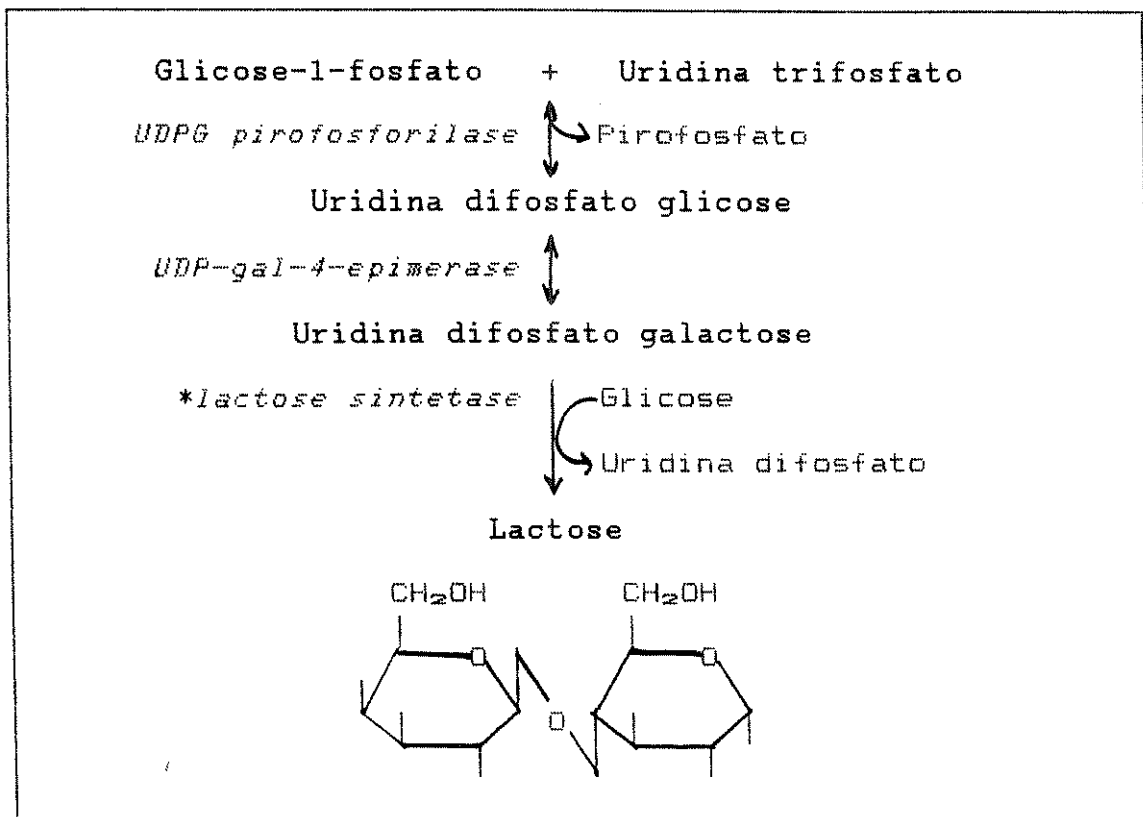


FIGURA 1 - SÍNTESE DA LACTOSE

\* dependente de  $\alpha$ -lactoalbumina e galactosil transferase

A ligação  $\beta$  1,4 é hidrolisada, no organismo humano, pela enzima beta-galactosidase (lactase) que se encontra nas bordas em escova do intestino delgado (DAVIDSON, 1984; ENCK e WHITEHEAD, 1986; FLATZ, 1987). A glicose e a galactose resultantes são absorvidas por transporte ativo pelo sistema porta. No fígado a galactose é metabolizada e convertida a glicose. A capacidade do fígado em executar esta função pode ser usada como prova de função hepática na prova de tolerância à galactose (HARPER e colaboradores, 1982; SGARBIERI, 1987). A via de conversão da galactose em glicose (figura 2) apresenta três fatos relevantes. A conversão da galactose a glicose é reversível, resultando que a galactose préformada não é essencial na dieta. A galactose é necessária, no organismo, na formação do leite assim como na síntese de cerebrosídeos (ocorrendo como glicolípides) ou na constituição de tecidos conjuntivos sob a forma de glicoproteínas. E finalmente, o terceiro fato, a galactoquinase, enzima que opera no início do processo de conversão, auxiliando a fosforilação da galactose, é uma enzima adaptativa respondendo à ingestão de galactose com um aumento de atividade.

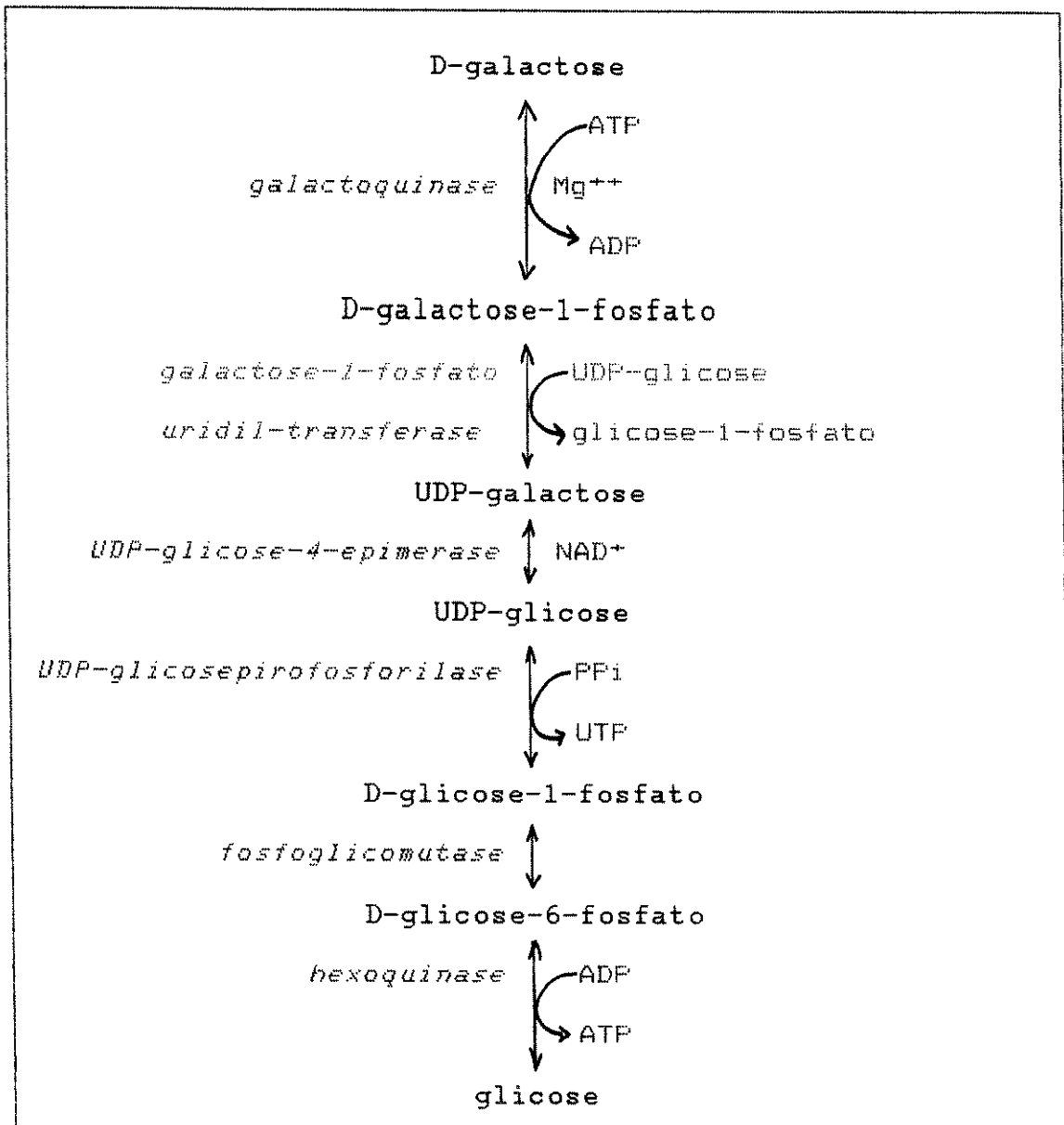


FIGURA 2 - VIA DE CONVERSÃO DA GALACTOSE EM GLICOSE



Os animais jovens, segundo HARPER e colaboradores (1982), mostram maior atividade de galactoquinase que os adultos. Entretanto, os mesmos autores lembram que os galactosêmicos (por doença hereditária) não têm deficiência de galactoquinase porque apresentam a galactose já fosforilada (galactose-1-fosfato) nos eritrócitos. Nestes casos, a enzima deficiente é a galactose-1-fosfato-uridil-transferase, situada na etapa seguinte. Esta deficiência estará ocorrendo tanto a nível de hepatócito quanto de eritrócito. Entretanto, na puberdade o fígado produz a enzima UDP-galactose pirofosforilase em quantidade suficiente para metabolizar a galactose (HARPER e colaboradores, 1982). Através da via metabólica normal a ingestão de lactose provocará, então, o aumento da glicemia sanguínea por determinado período e do sangue a glicose passará às células, onde entrará no ciclo metabólico para o fornecimento de energia (DAVIDSON, 1984; KLIEGMAN e SPARKS, 1985).

A enzima responsável pela hidrólise da lactose da dieta no intestino humano é a lactase. A lactase constitui um complexo enzimático de duas subunidades com atividade de beta-galactosidase e de beta-glicosidase. O pH ótimo da lactase humana situa-se entre 6,0 e 6,5 e a temperatura ótima é de 37° C (FLATZ, 1987).

No início da reação de hidrólise da lactose, a quantidade de produtos formados é proporcional à quantidade de enzima presente. Verificou-se, in vitro, que a hidrólise acompanha a cinética de primeira ordem até 10-15% de hidrólise a uma concentração de 0,028 M de substrato (DALHQVIST, 1964). TOWNLEY e colaboradores (1965) obtiveram dados que reforçam os resultados anteriores, sendo que a taxa de produção de glicose foi constante nos primeiros 65 minutos. No mesmo estudo verificaram o mesmo padrão de resposta, com uma variação de até 15%, com o dobro da concentração de substrato, mostrando que a lactase intestinal tem alta afinidade pelo seu substrato. Com o decorrer do tempo, a galactose formada inibe a ação enzimática diminuindo a velocidade da reação de hidrólise.

A atividade de lactase no ser humano, detectada no embrião a partir da 8<sup>ma</sup> semana de gestação, aumenta progressivamente até a 34<sup>ma</sup>/36<sup>ma</sup> semana (ROGGERO e colaboradores, 1986) e daí mais rapidamente até o nascimento a termo, sendo que ao fim da primeira semana de vida, o recém-nascido é considerado lactose-tolerante para a quantidade de lactose ingerida na dieta normal (DOUWES e colaboradores, 1980; MACLEAN e FINK, 1980). Por volta do 5<sup>o</sup> mês de idade, a atividade de lactase torna-se estável e após o desmame inicia-se o declínio (GRAY, 1976; DAVIDSON, 1984; ENCK e WHITEHEAD, 1986; FLATZ, 1987) chegando a 5-10% da atividade anterior (WEAVER e colaboradores, 1986). O declínio pode ocorrer de 1 a 3 anos

de idade em negróides e índios brasileiros, por volta dos 5 anos em japoneses e mexicanos e mais tardiamente em populações com tradição de cultura pastoral ou agro-pastoral (SEVA-PEREIRA, 1981; CAVALLI-SFORZA e colaboradores, 1987).

A deficiência primária de lactose adulta, diagnosticada principalmente com cargas antifisiológicas de lactose, atinge cerca de 70% da população mundial (NEWCOMER, 1978; SIMOONS, 1978; DAVIDSON, 1984; TADESSE e WONG, 1985; ENCK e WHITEHEAD, 1986), com níveis altos (60 a 100%) em populações tradicionalmente não consumidoras de leite (asiáticos, orientais, africanos, negróides), intermediários (30 a 60%) em populações mestiças e baixos (0 a 30%) em populações historicamente consumidoras de leite (europeus do norte e do centro).

Nóbrega, citado por SALOMON e colaboradores (1981), relata que cerca de 30% das crianças de São Paulo apresentam hipersensibilidade à lactose. Também no Brasil, quase todos os testes para diagnosticar má absorção e/ou intolerância à lactose foram realizados com sobrecarga oral de lactose. Nesta linha WEHBA (1976), num estudo com índios menores de 4 anos de idade do Alto Xingu, encontrou 90% de maus absorvedores de lactose. SILVESTRINI (1983) obteve 65% de escolares maus absorvedores de lactose em São Paulo. ROSADO, em 1986, estudou crianças na faixa etária de 6 a 19 anos de idade, tendo encontrado 79% de maus absorvedores e/ou

intolerantes. DUARTE e OLIVEIRA (1978), por sua vez, obtiveram 58% de maus absorvedores em adultos de baixo nível sócio-econômico. NÓBREGA e YIN (1984) obtiveram 67,3% de maus absorvedores em adultos de bom nível sócio-econômico. SEVA-PEREIRA (1981) obteve 71% de indivíduos adultos com má absorção de lactose, em Campinas. Já OROZCO-DURAN (1987), utilizando o teste do H<sub>2</sub> pulmonar em doses fisiológicas de lactose e leite em indivíduos adultos, encontrou 98% de bons absorvedores de lactose.

A digestão da lactose, no intestino delgado, é normalmente incompleta, uma vez que biologicamente a lactase é uma enzima de baixa atividade intestinal, in vivo. A atividade de lactase pode ser medida diretamente por estudos histológicos em material celular retirado do jejuno, por biópsia (ENCK e WHITEHEAD, 1986). As células epiteliais da mucosa jejunal, após homogeneização, são incubadas com o substrato e a atividade enzimática é medida, em espectrofotômetro, pela produção de glicose (DAHLQVIST, 1964; NEWCOMER e MCGILL, 1967).

Para alguns autores esta deficiência enzimática pode ser congênita (muito rara) ou adquirida. A deficiência congênita é uma manifestação, descrita por HOLZEL e colaboradores (1959), transmitida hereditariamente de modo recessivo autossômico. A deficiência de lactase adquirida classifica-se em primária e secundária. A deficiência de lactase é

primária quando proveniente da baixa atividade enzimática. É secundária quando resulta na redução do nível de dissacaridases, de forma geral ou específica, por lesão da mucosa intestinal devido a doenças do trato gastrointestinal (gastrite, duodenite, enterocolite, etc.), desnutrição proteico-calórica ou intolerância à proteína ou a outros componentes dietéticos (SIMOONS, 1969; GRAY, 1976; NEWCOMER, 1978; DAVIDSON, 1984; LIFSCHITZ e colaboradores, 1985; HOUTS, 1988).

Na deficiência de lactase, a lactose ingerida permanece no intestino delgado tornando a pressão osmótica do conteúdo do lúmen maior que a plasmática com fluxo do líquido extracelular para a luz do intestino. Ocorrerá aumento do volume intestinal que estimulará os movimentos peristálticos aumentando a velocidade de trânsito intestinal. A lactose, presente no intestino, é fermentada pela microflora bacteriana com produção de ácidos orgânicos (lático e acético), que aumentarão a concentração do meio levando à menor reabsorção da água presente no bolo fecal e concorrendo para o aumento do peristaltismo e para a diminuição do pH (7,0-7,5 para 5,0 ou menos). Há, ainda, produção de gases:  $H_2$ ,  $CO_2$  e  $CH_4$ , este último em pequena quantidade, que levam à distensão das alças intestinais. Todo este quadro leva à sintomas intestinais, característicos da baixa hidrolisação da lactose, tais como cólica ou dor intestinal, meteorismo e flatulência, diarreia

osmótica com fezes líquidas, espumantes e ácidas, podendo causar má absorção de outros nutrientes (HOLZEL e colaboradores, 1959; PETERNEL, 1965; NEWCOMER e MCGILL, 1966; GRAY, 1976; FLATZ, 1987; LITTMAN, 1987; HOUTS, 1988). Durante a fermentação bacteriana da lactose não digerida no cólon, os gases produzidos são difundidos para o sangue e eliminados pelos pulmões (CALLOWAY, 1966; LEVITT, 1969; LEVITT e BOND, 1970; BOND e LEVITT, 1972 e 1976; FERNANDES e colaboradores, 1978; MAFFEI e colaboradores, 1984; BERG e colaboradores, 1985; FLATZ, 1987). A medição do  $H_2$  pulmonar tem mostrado bons resultados quanto à quantificação de lactose não hidrolisada. Segundo OROZCO-DURAN (1987), 35 a 40% do  $H_2$  formado no intestino são reabsorvidos pelo sistema mucosa colônico-circulatório e, desta porcentagem, 70 a 75% são excretados pelos pulmões durante o processo da expiração. O restante é excretado pela urina (15%) e pela pele (10%).

Sinais e sintomas da baixa hidrolisação da lactose são causados, além da deficiência da enzima lactase, também por outros fatores, tais como: excesso de lactose ingerida, tempo de trânsito intestinal rápido, desequilíbrio da flora microbiana intestinal com hipercrecimento de uma flora diferenciada em metabolizar a lactose (DAVIDSON, 1984; ENCK e WHITEHEAD, 1986; OROZCO-DURAN, 1987), caracterizando uma síndrome clínica própria da má absorção de lactose (DAVIDSON, 1984; THE ROYAL COLLEGE OF PHYSICIANS e THE

BRITISH NUTRITION FOUNDATION, 1984; FLATZ, 1987; HOUTS, 1988).

O diagnóstico da baixa hidrolisação da lactose se faz, indiretamente, pela observação de sintomas apresentados após a ingestão de lactose. Entretanto, muitos autores têm utilizado testes metabólicos, uma vez que apresentam boa correlação com a resposta sintomática (METZ e colaboradores, 1975, MAFFEI e colaboradores, 1984; BERG e colaboradores, 1985, CIFUENTES e colaboradores, 1985). Os mais utilizados são medida da variação da glicemia e do  $H_2$  expirado em relação ao nível de jejum, embora possa ser utilizada a excreção urinária (lactosúria).

O teste da glicemia está baseado na elevação da glicose plasmática em relação ao nível de jejum. Emprega-se, geralmente, a reação da glicose oxidase para a avaliação quantitativa da glicose existente no sangue.

Amostras de sangue são colhidas antes e após a ingestão de lactose, em determinados intervalos de tempo e duração, para medida da concentração de glicose. A diferença entre o pico máximo de glicemia pós ingestão de lactose e a glicemia de jejum é indicativa do grau de absorção de lactose. A dose preconizada varia conforme o autor, assim como o tipo de sangue colhido, intervalos e duração de tempo para coleta das amostras (quadro 1).

QUADRO 1 - AVALIAÇÃO DA GLICEMIA: RELAÇÃO DE AUTORES CONFORME DOSE DE LACTOSE PRECONIZADA, TIPO DE SANGUE, INTERVALOS E DURAÇÃO DE TEMPO PARA A COLETA DAS AMOSTRAS

| AUTOR E ANO<br>DA PUBLICAÇÃO | DOSE DE<br>LACTOSE(g) | GLICEMIA<br>LIMITE(mg/dl) | TIPO DE<br>SANGUE | TEMPO(minutos)              |
|------------------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------|-----------------------------|
| Holzel et al,1959            | 80                    | *                         | *                 | 0,30,60,120,180             |
| Dunphy et al,1965            | 100                   | 20/22                     | *                 | 0,30,60,90,120              |
| Peternel,1965                | 100                   | 20                        | V                 | 0,15,30,45,60,75,90,105,120 |
| Bayless e Rosensweig,1966    | 50 <sup>(1)</sup>     | 25/27                     | *                 | 0,20,30,60,90,120           |
| Welsh,1966                   | 1/kg                  | 20/25                     | C                 | 0,30,60,120,180             |
| McGill e Newcomer,1967       | 50                    | 20                        | V/C               | 0,15,30,60,90,120           |
| Newcomer e McGill,1967       | 50                    | 20/25                     | V                 | 0,15,30,60,90,120           |
| Welsh e Rohrer,1967          | 1 a 2/kg              | 21/24                     | V/C               | *                           |
| Levitt e Donaldson,1970      | 50                    | 20                        | V                 | 0,15,30,60,90,120           |
| Welsh,1970                   | 1/Kg <sup>(1,2)</sup> | 22                        | V/C               | *                           |
| MacAdam et al,1974           | 50 <sup>(1)</sup>     | 25                        | *                 | 0,30,60,120                 |
| Stephenson e Latham,1974     | 50                    | 20/25                     | C                 | 0,30,45,75                  |
| Bayless et al,1975           | 50 <sup>(1,2)</sup>   | 26                        | V                 | 0,15,30,60,90,120           |
| Krasilnikoff et al,1975      | 2/kg                  | 20/25                     | C                 | 0,15,30,45,60,90,120        |
| Mitchell et al,1975          | 50                    | 26                        | V                 | 0,15,30,45,60               |
| Garza e Scrimshaw,1976       | 2/kg <sup>(3)</sup>   | 20                        | C                 | 0,20,45                     |
| Jones et al,1976             | 50                    | 25                        | C                 | 0,20,40,60                  |
| Gudman-Hoyer e Simony,1977   | 100                   | 25                        | C                 | 0,15,30,45,60,90,120        |

continua...





Poucos autores fazem referência ao pico máximo de glicemia. No entanto, BAYLESS e ROSENSWEIG (1966), JOHNSON e colaboradores (1978) e SEVA-PEREIRA (1981) obtiveram pico máximo nos tempos 20 e/ou 40 minutos.

O teste de  $H_2$  tem sido utilizado por ser sensível e específico para diagnosticar má absorção de carboidratos, especialmente quando se utilizam pequenas doses (NEWCOMER e colaboradores, 1974 e 1975; METZ e colaboradores, 1975 e 1976; MOORSEL e colaboradores, 1984), além de não invasivo e particularmente adequado para estimativas em crianças (MAFFEI e colaboradores, 1976; DOUWES e colaboradores, 1978; FERNANDES e colaboradores, 1978; ROSADO, 1985; ABRAMOWITZ e colaboradores, 1986a).

Quanto à medida de  $H_2$  expirado, também variam as doses de lactose preconizadas, intervalos e tempo de duração de coleta de ar para a determinação do pico máximo de  $H_2$  em relação ao nível de jejum (quadro 2). Neste caso, a diferença obtida é indicativa do grau de não absorção de lactose.

QUADRO 2 - AVALIAÇÃO DO H<sub>2</sub> PULMONAR: RELAÇÃO DE AUTORES CONFORME DOSE DE LACTOSE PRECONIZADA, INTERVALOS E DURAÇÃO DE TEMPO PARA A COLETA DAS AMOSTRAS

| AUTOR E ANO<br>DA PUBLICAÇÃO | DOSE DE<br>LACTOSE<br>(g) | VALOR H <sub>2</sub><br>LIMITE<br>(ppm) | TEMPOS<br>(minutos)            |
|------------------------------|---------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------|
| Levitt e Donaldson, 1970     | 50                        | *                                       | 0,120,240                      |
| Metz et al, 1975             | 50                        | 20                                      | 0,30,60,90,120                 |
| Gearhart et al, 1976         | 0,25/kg                   | 10                                      | a cada 15, até 320             |
| Solomons et al, 1977         | 1,75/kg                   | 20                                      | a cada 30, até 300             |
| Douwes et al, 1978           | 2/kg                      | *                                       | 0,30,60,90,120,150             |
| Fernandes et al, 1978        | 2/kg (2)                  | *                                       | 0,30,60,90,120,150             |
| Solomons e Viteri, 1978      | 1,75/kg                   | 20                                      | 0,30,60,90,120,180,240         |
| Solomons et al, 1980         | 50                        | 20                                      | a cada 30, até 720             |
| Tadesse et al, 1980          | 50                        | *                                       | 0,30,60,90,120,150,180         |
| Welsh et al, 1981            | 12 a 36                   | *                                       | a cada 15, até 180             |
| Rosado e Solomons, 1983      | 18                        | 20                                      | a cada 30, até 300             |
| Zheng e Rosenberg, 1984      | 25                        | 20                                      | 0,30,60,90,120,150             |
| Berg et al, 1985             | 100                       | 20                                      | -5,5,30,60,90,120,150,180,210  |
| Forget et al, 1985           | 2/kg (2)                  | 20                                      | 0,30,60,90,120,150,180         |
| Lifschitz et al, 1985        | 1/kg                      | 20                                      | 0,30,60,90,120,150,180         |
| Abramowitz et al, 1986a      | 2/kg (2)                  | 10                                      | 0,30,60,90,120,150,180         |
| Bozzani et al, 1986          | 25/50                     | 20                                      | 0,30,60,90,120,180             |
| Brand e Darnton-Hill, 1986   | 2/kg (2)                  | 20                                      | 0,120                          |
| Ceriani et al, 1986          | 2/kg (2)                  | 10                                      | 0,30,60,90,120,150,180,210,240 |
| Barillas e Solomons, 1987    | 12 (3)                    | 20                                      | 0,60,120,180                   |

*continua...*

...continuação

|                    |                       |    |                          |
|--------------------|-----------------------|----|--------------------------|
| Chang et al,1987   | 1-2/kg <sup>(2)</sup> | 20 | 0,30,60,90,120           |
| Maggi et al,1987   | 50                    | 20 | 0,60,120,180,240,300,360 |
| Grozco-Durán,1987  | 20                    | *  | a cada 30, até 240       |
| Quak et al,1987    | 15                    | 20 | 0,60,120,180             |
| Rosado et al,1987  | 18 <sup>(3)</sup>     | 20 | a cada 30, até 300       |
| Ceriani et al,1988 | 2/kg <sup>(2)</sup>   | 20 | a cada 30, até 240       |
| Dewit et al,1988   | 18                    | 20 | a cada 30, até 480       |
| Ting et al,1988    | 0,5/kg                | 20 | 0,60,120,180             |

\* indiscriminado <sup>(1)</sup> m<sup>2</sup> de superfície corporal

/kg: /kg de peso corpóreo <sup>(2)</sup> máximo de 50 g

<sup>(3)</sup> na forma de leite

Para a discriminação entre absorção e má absorção tem se recomendado, com o objetivo de simplificar o teste, a diminuição do número de amostras de ar. BOND e LEVITT (1972); METZ e colaboradores (1975), NEWCOMER e colaboradores (1975), DOUWES e COLABORADORES (1978) e WELSH e colaboradores (1981) apresentam dados sugestivos para 2 horas. ABRAMOWITZ e colaboradores (1986a e 1986b), BRAND e DARTON-HILL (1986) recomendam o tempo 2 horas. BARILLAS e SOLOMONS (1987), QUAK e colaboradores (1987) recomendam 2 e 3 horas.

Os primeiros estudos sobre sintomatologia mostraram boa correlação entre presença de sintomas de baixa hidrolisação de lactose e baixa atividade de lactase intestinal (DUNPHY e colaboradores, 1965; BAYLESS e ROSENSWEIG, 1966; NEWCOMER e MCGILL, 1966; CAVALLI-SFORZA e colaboradores, 1987). No entanto, a maioria dos autores utilizou sobrecarga oral de lactose, tendo encontrado, inclusive, alta prevalência de sintomatologia em indivíduos considerados lactase normais. Ressaltam, enfim, que todos os indivíduos podem tolerar pequenas quantidades de leite, uma vez que a presença de sintomas depende da quantidade de lactose ingerida e da sensibilidade individual.

Nesta linha, outros trabalhos foram realizados com o objetivo de estudar a relação entre dose ingerida de lactose e aparecimento de sintomas (BEDINE e BAYLESS, 1973; BAYLESS e colaboradores, 1975; MITCHELL e colaboradores, 1975; GUDMAN-HOYER e SIMONY, 1977; HAVERBERG e colaboradores, 1980; NEWCOMER e MCGILL, 1984; CAVALLI-SFORZA e STRATA, 1986), tendo demonstrado que a incidência de sintomas aumenta com o aumento da dose de lactose.

Vários pesquisadores, partindo do princípio que sinais e sintomas de intolerância à lactose só aparecem quando se ultrapassa a dose limite de tolerância oral para lactose, estudaram a utilização de leite e derivados com baixo teor

de lactose como alternativa à dieta normal, reforçando a hipótese de que a maioria dos sintomáticos podem tolerar leite e produtos lácteos com baixo teor de lactose (JONES e colaboradores, 1976; SANDINE e DALY, 1979; DAVIDSON, 1984; ROSADO e colaboradores, 1984; LITTMAN, 1987; MARTINI e colaboradores, 1987a; SAVAIANO e LEVITT, 1987; CERIANI e colaboradores, 1988).

TADESSE e WONG (1985) e OROZCO-DURAN (1987) referem que a dose padrão de 50 gramas de lactose comumente usada nos testes de tolerância oral é inapropriada, já que pode levar a diversos sintomas, falsamente atribuídos à deficiência enzimática, uma vez que cada indivíduo apresenta uma dose limite de tolerância.

OROZCO-DURAN (1987) e HOUTS (1988) sugerem o estudo da dose limite de lactose para a ocorrência de sintomas e vários outros autores o uso de produtos lácteos com redução de lactose.

Para a diminuição do teor de lactose no leite tem-se utilizado beta-galactosidase produzida por um grande número de leveduras, fungos e bactérias. Os mais importantes comercialmente são as leveduras *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis*, os fungos *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* e a enterobactéria *Escherichia coli* (CRUEGER e CRUEGER, 1984). Entretanto, a eleição da enzima a

ser utilizada depende fundamentalmente das suas características (quadro 3).

QUADRO 3 - PROPRIEDADES DE ALGUMAS LACTASES MICROBIANAS

| MICROORGANISMO                | pH      |         | TEMPERATURA |
|-------------------------------|---------|---------|-------------|
|                               | ótimo   | estável | ótima (°C)  |
| <i>Aspergillus niger</i>      | 3,0-4,0 | 2,5-8,0 | 55          |
| <i>Aspergillus oryzae</i>     | 5,0     | 2,5-7,0 | 55          |
| <i>Kluyveromyces fragilis</i> | 6.6     | 6,5-7,5 | 30-35       |
| <i>Kluyveromyces lactis</i>   | 6.5-7.0 | 6,5-7,5 | 30-35       |
| <i>Escherichia coli</i>       | 7.2     | 6,0-8,0 | 35          |

FONTE: CRUEGER & CRUEGER (1984). p. 449.

Hidrólise de lactose em produtos lácteos acidificados inoculados por bactérias lácticas como *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophyllus* tem sido obtida por diversos autores (KILARA e SHAHANI, 1976; RAO e colaboradores, 1985; McDONOUGH e colaboradores, 1987, MARTINI e colaboradores, 1987b; DEWIT e colaboradores, 1988). No entanto, os maiores índices de hidrólise de lactose em leite (> 90%) têm sido obtidos utilizando lactase de levedura (WENDORFF e colaboradores, 1971; CHENG e colaboradores, 1979; SOLOMONS e colaboradores, 1984; SOLOMONS e BARILLAS, 1986).

As leveduras *Kluyveromyces fragilis* e *Kluyveromyces lactis* produzem beta-galactosidase intracelularmente num pH estável próximo ao do leite, sendo, por isto, utilizadas na hidrólise da lactose em leite (CRUEGER e CRUEGER, 1984).

PASTORE (1981) relata que Blankenship e Awells, em 1974, estudando a aplicação de beta-galactosidase microbiana de pH ótimo próximo ao do leite, verificaram que a enzima de levedura é mais susceptível à inibição por galactose e que a maioria é inativada quando aquecida a 45°C por 10 minutos, o que resulta na necessidade de uma enzima termoestável para a aplicação comercial em leite.

Justifica-se, portanto, identificar a dose limite de tolerância oral para lactose, visando a evitar uma superestimação de lactase-deficientes, lactose-intolerantes e/ou lactose-maus absorvedores, além de avaliar a possibilidade do uso de leite com baixo teor de lactose no tratamento dietético de indivíduos com deficiência de lactase.



## 4. OBJETIVOS

### 4.1. GERAIS

- Identificar a dose limite de tolerância oral à lactose em adultos;
- Avaliar a possibilidade de uso de leite com baixo teor de lactose no tratamento dietético de indivíduos com deficiência de lactase.

### 4.2. ESPECÍFICOS

- Determinar a relação entre absorção de lactose e dose ingerida de lactose;
- Determinar a relação entre sintomas de baixa hidrolisação da lactose e dose ingerida de lactose;
- Verificar a aceitação sensorial de leite com baixo teor de lactose; e
- Determinar a aceitação metabólica de leite com baixo teor de lactose.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1. POPULAÇÃO ESTUDADA

O estudo referente à resposta glicêmica e sintomática foi efetuado, no Laboratório de Análise Instrumental do Departamento de Bioquímica do Instituto de Ciências Biomédicas da Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUCCAMP), com 21 indivíduos voluntários com idade entre 19 e 34 anos. Para cada indivíduo foi preenchida uma ficha (anexo 1) contendo dados sobre identificação pessoal, ingestão láctea, resposta glicêmica e sintomática após ingestão de lactose. Foram descartados dados referentes a 3 indivíduos que não completaram os testes, restando, portanto, 18 indivíduos.

Para se avaliar sensorialmente o leite com redução de lactose foram aplicados testes de escala hedônica e de preferência, utilizando-se leite fluído integral pasteurizado como padrão. As bebidas foram testadas por 57 provadores adultos. Os testes foram realizados no período da manhã (10,00 horas) no Laboratório de Dietética do Departamento de Alimentos e Técnica de Alimentos da Faculdade de Ciências Médicas da PUCCAMP.

Ensaio referente à resposta metabólica foi realizado no Laboratório de Pesquisa do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Universidade Estadual de São Paulo (Campus Botucatu), com 4 adultos voluntários (21 a 51 anos de idade), que não haviam ingerido antibiótico na semana anterior ao teste. Dados sobre identificação pessoal, ingestão láctea, composição e horário da última refeição, teor de  $H_2$  pulmonar excretado e sintomas após a ingestão láctea foram anotados em ficha apropriada (anexo 2).

## 5.2. HÁBITO DE CONSUMO

Os indivíduos foram classificados de acordo com a quantidade e frequência de consumo de leite e leites fermentados. Adotou-se a seguinte pontuação de frequência de ingesta:

QUADRO 4 - FREQUÊNCIA DE CONSUMO DE LEITE

| <u>Pontos</u> | <u>200 ml de leite</u>      |
|---------------|-----------------------------|
| 0             | nunca                       |
| 1             | 1 a 3 vezes/mês             |
| 2             | 1 a 3 vezes/semana          |
| 3             | 3 a 6 vezes/semana          |
| 4             | 2 vezes/dia                 |
| 5             | <u>mais que 2 vezes/dia</u> |

### 5.3. TESTE DE GLICEMIA

Os indivíduos (18) receberam, após jejum mínimo de 8 horas, doses crescentes de lactose (10, 20, 30, 40 e 50 gramas) e foram submetidos a teste de glicemia nos tempos 0, 20 e 40 minutos após a ingestão de lactose. Utilizou-se água como controle. Considerou-se como tempo zero o momento anterior imediato à ingestão de lactose.

#### 5.3.1. Coleta de Sangue e Separação do Plasma

Após higienização com algodão embebido em álcool, pequena incisão foi feita com lanceta no dedo médio, de modo que o sangue fluísse espontaneamente e fosse colhido em 2 tubos capilares lavados previamente com solução de fluoreto de sódio, anticoagulante inibidor da glicólise, e secos em estufa a 40°C por 30 minutos. Uma das extremidades de cada capilar foi vedada ao fogo e os tubos levados para centrifugação a 3500 rpm por 10 minutos. Após a precipitação dos elementos figurados do sangue, o plasma foi colhido em tubo capilar ajustado para 20  $\mu$ l por meio de pipeta volumétrica digital.

### 5.3.2. Preparo da Reação

O plasma colhido foi transferido para tubo de ensaio contendo 2 ml de solução enzimática glicose-oxidase-peroxidase\*. A mistura, agitada manualmente, foi levada a banho-maria a 37°C por 15 minutos. O padrão foi preparado com 2 ml da mesma solução e 20 µl de solução padrão, contendo 100 mg de glicose/100 ml. O branco foi preparado, para calibração do espectrofotômetro, com 2 ml da solução enzimática.

### 5.3.3. Medida da Glicemia

Após a reação, a mistura foi submetida à leitura de absorbância em Espectrofotômetro B 342-11 (Micronal). A glicemia foi calculada em mg/dl, como segue:

$$\text{glicemia(mg/dl)} = \frac{\text{absorbância da amostra} \times 100}{\text{absorbância do padrão}}$$

Considerou-se como pico da glicemia o aumento máximo da glicemia (20 ou 40 minutos) em relação à glicemia de jejum.

---

\* Kit Glicose God-Ana da Labtest e Kit Glicose da Roche.

#### 5.4. SINTOMAS DE BAIXA HIDROLISAÇÃO DE LACTOSE

Foram levantados os sintomas de baixa hidrolisação apresentados pelos indivíduos até 12 horas após a ingestão de lactose. Os indivíduos foram classificados conforme a pontuação proposta por ROSADO e colaboradores (1987) como segue:

QUADRO 5 - SINTOMAS DE BAIXA HIDROLISAÇÃO DE LACTOSE

| Sintomas                | ausente | leve | moderado | severo |
|-------------------------|---------|------|----------|--------|
| flatulência/meteorismo  | 0       | 1    | 2        | 3      |
| dor ou cólica abdominal | 0       | 1    | 2        | 3      |
| diarréia                | 0       | 2    | 4        | 6      |

#### 5.5. LEITE COM BAIXO TEOR DE LACTOSE

Leite fluído cru, tipo B, integral, foi processado na Planta Piloto de Leite e Derivados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. O leite foi, inicialmente, pasteurizado por aquecimento a 76°C e resfriado a 32°C. A seguir foi incubado com beta-galactosidase de *Kluyveromyces lactis*\* a 34°C por 4 horas,

---

\*Maxilact da Gisc-Brocades-N.V.

sendo a seguir pasteurizado a 80°C por 10 minutos, acondicionado em recipientes de polietileno e resfriado. O teor inicial de lactose foi determinado pelo método de Fehling, descrito pela ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (1965). Para a determinação do grau de hidrólise mediu-se a glicose liberada, por ação da beta-galactosidase, pelo método de DALHQVIST (1964).

#### 5.6. ANÁLISE SENSORIAL

A equipe de degustadores, composta por acadêmicos dos Cursos de Nutrição e Ciências Farmacêuticas da PUCCAMP, foi previamente orientada sobre o método de análise sensorial e os testes a serem realizados. Cada degustador recebeu, em secções individuais separadas fisicamente por um amplo espaço, 150 ml dos produtos testados (padrão e leite com baixo teor de lactose) e 1 copo de água à temperatura ambiente. Os produtos testados, codificados por 3 dígitos aleatórios, foram servidos à temperatura de 13°C, alternando-se a ordem de apresentação nos dois testes realizados.

#### 5.6.1. Teste de Escala Hedônica

Cada provador recebeu o padrão (leite integral pasteurizado) e a amostra teste (leite com baixo teor de lactose), anotando seu grau de gostar ou desgostar dos produtos em ficha apropriada (anexo 3). Os valores obtidos foram analisados pelo método da variância, conforme recomendação de MORAES (1988).

#### 5.6.2. Teste de Preferência

O procedimento anterior foi repetido com nova codificação para os produtos e ficha para determinação da opinião do consumidor (anexo 4). Os dados foram analisados pelo teste bicaudal.

#### 5.7. TESTE DO H<sub>2</sub> PULMONAR

Cada indivíduo recebeu, em dias diferentes, após jejum mínimo de 8 horas, 300 ml de leite integral e 300 ml de leite com baixo teor de lactose, sendo submetido a teste de excreção de H<sub>2</sub> pulmonar nos tempos 0, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos após a ingestão láctea. Considerou-se como tempo zero o momento anterior imediato à ingestão láctea.



#### 5.7.1. Coleta de ar pulmonar

As amostras de ar pulmonar, expirado num tubo de plástico polivinil, foram coletadas e armazenadas, por um período máximo de 30 minutos, em seringas plásticas Monoject de 60 ml, com válvula de 3 vias, e analisadas por cromatografia gasosa.

#### 5.7.2. Medida de $H_2$ excretado

A concentração de  $H_2$  foi medida em cromatógrafo a gás (Instrumentos Científicos CG Ltda.), com peneira molecular 5A 60/80 mesh (Field Instruments Co. Ltd., Surrey, England), operado a 50°C com gás de arraste  $N_2$  (fluxo = 60 ml/minuto). Os valores de  $H_2$  foram quantificados contra uma mistura gasosa padrão contendo uma concentração de 100 ppm de  $H_2$  (White Martins, Brasil).

Considerou-se como pico de  $H_2$  excretado o aumento máximo em relação ao nível de jejum.

## 6. RESULTADOS

### 6.1. HABITO DE CONSUMO

Observa-se (quadro 6) que a maioria dos indivíduos estudados consome leite regularmente. Sendo que cerca de 44% dos indivíduos ingere 200 ml de 3 a 6 vezes por semana e 39% ingere 400 ml por dia, o que corresponde a uma ingesta diária de 5 a 20 gramas de lactose por indivíduo (média = 13 gramas de lactose/dia). Os leites fermentados são consumidos com menor frequência.

QUADRO 6 - RELAÇÃO DE INDIVÍDUOS CONFORME PONTUAÇÃO DE HABITO DE CONSUMO DE  
LEITE INTEGRAL E LEITE FERMENTADO

| INDIVÍDUO | INTEGRAL | FERMENTADO | INDIVÍDUO | INTEGRAL | FERMENTADO |
|-----------|----------|------------|-----------|----------|------------|
| 01        | 3        | 2          | 10        | 4        | 2          |
| 02        | 3        | 1          | 11        | 0        | 0          |
| 03        | 4        | 2          | 12        | 3        | 1          |
| 04        | 1        | 1          | 13        | 4        | 2          |
| 05        | 4        | 1          | 14        | 3        | 2          |
| 06        | 3        | 1          | 15        | 4        | 1          |
| 07        | 3        | 1          | 16        | 3        | 1          |
| 08        | 3        | 2          | 17        | 4        | 1          |
| 09        | 4        | 2          | 18        | 2        | 2          |

Verifica-se, ainda, que o indivíduo 4 consome os dois produtos ocasionalmente (200 ml de 1 a 3 vezes por mês) e o 18 consome os dois produtos com maior frequência (200 ml de 1 a 3 vezes por semana), tendo o primeiro relatado história de intolerância ao leite. O indivíduo 11 nunca consome bebidas lácteas e relata forte aversão a estes produtos, tendo abandonado o hábito de consumir leite aos 6 anos de idade.

#### 6.2. RESPOSTA GLICÊMICA

Os resultados obtidos mostram que, em média, o pico da glicemia aumenta com o aumento da dose de lactose (Figura 3), numa correlação de 0,89, conforme método de Fischer, descrito por BERQUÓ e colaboradores (1981).

Quanto aos tempos utilizados, observou-se que, em média, a variação da glicemia é maior aos 40 minutos (figura 4). No entanto, um número significativo de indivíduos apresentam maior variação da glicemia aos 20 minutos (tabela 1), reforçando o conceito da resposta individual.

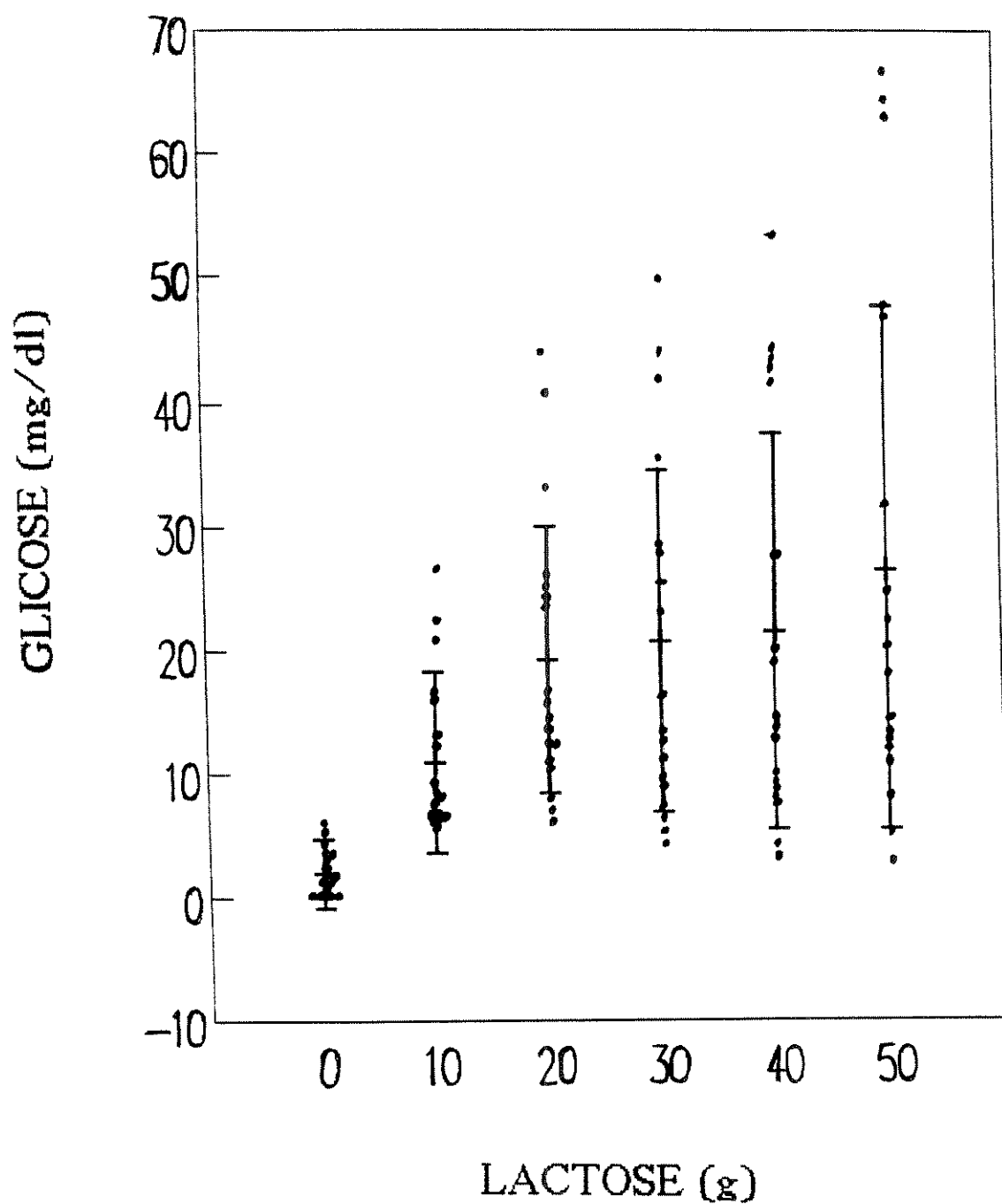


FIGURA 3 - DISTRIBUIÇÃO DOS INDIVÍDUOS CONFORME INCREMENTO DE GLICEMIA RELACIONADO COM A DOSE INGERIDA DE LACTOSE

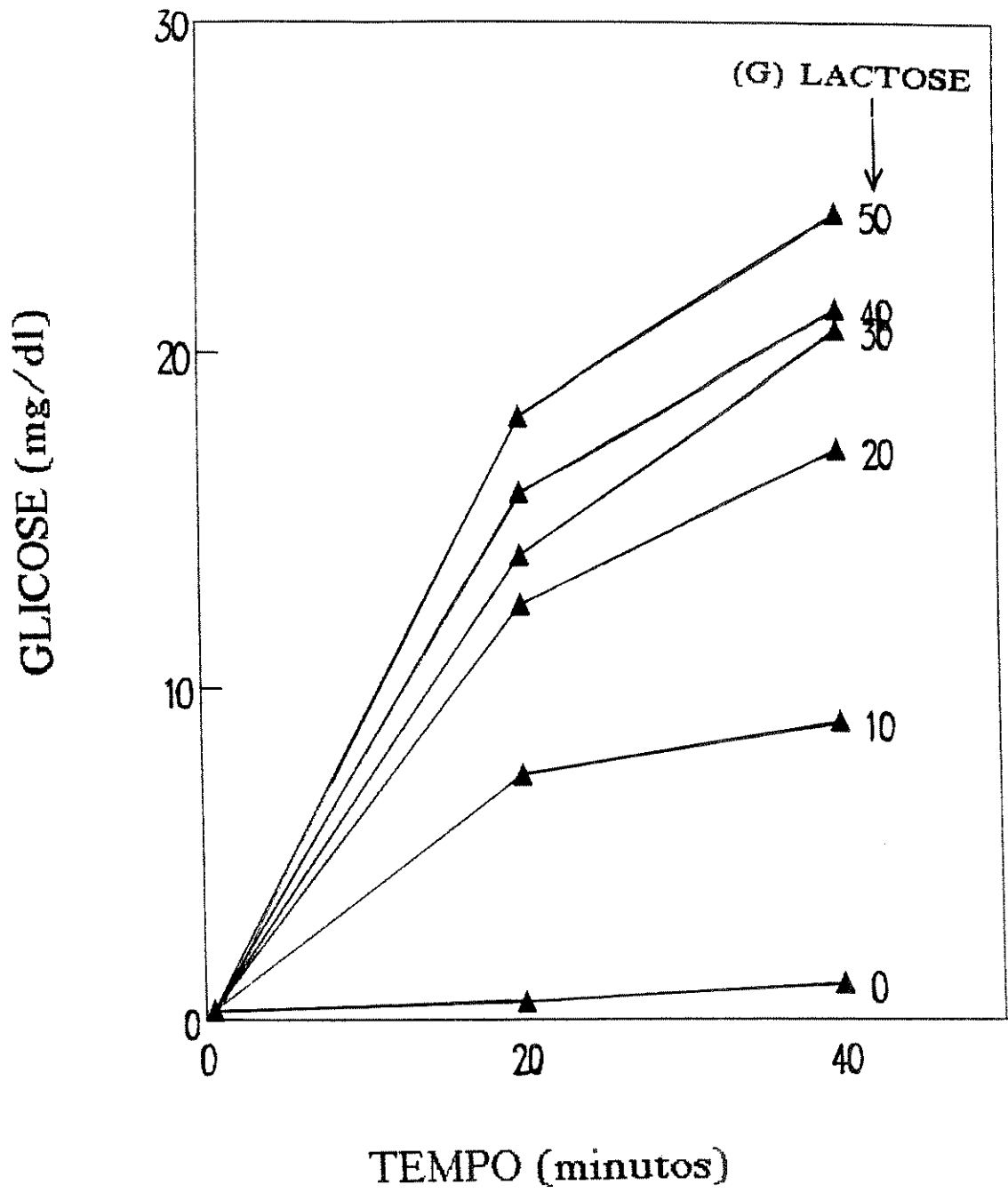


FIGURA 4 - VARIAÇÃO MÉDIA DA GLICEMIA CONFORME TEMPO E DOSE INGERIDA DE LACTOSE

TABELA 1 - DISTRIBUIÇÃO DOS INDIVÍDUOS CONFORME TEMPO DE PICO DE GLICEMIA E DOSE INGERIDA DE LACTOSE

| Dose Ingerida | Tempo de Pico de Glicemia (minutos) |      |    |      |       |
|---------------|-------------------------------------|------|----|------|-------|
| de Lactose    | 20                                  |      | 40 |      |       |
| (g)           | n                                   | %    | n  | %    | Total |
| 0             | 7                                   | 38,9 | 11 | 61,1 | 18    |
| 10            | 6                                   | 33,3 | 12 | 66,7 | 18    |
| 20            | 4                                   | 22,2 | 14 | 77,8 | 18    |
| 30            | 6                                   | 33,3 | 12 | 66,7 | 18    |
| 40            | 9                                   | 50,0 | 9  | 50,0 | 18    |
| 50            | 6                                   | 33,3 | 12 | 66,7 | 18    |

### 6.3. RESPOSTA SINTOMÁTICA

Verifica-se que, em média, a incidência de sintomas aumenta com o incremento da dose de lactose (figura 5). Cerca de 22% dos indivíduos se apresentam assintomáticos para todas as doses de lactose.

A figura 6 mostra a distribuição dos indivíduos conforme pontuação de sintomas e dose de lactose ingerida. Encontrou-se correlação de 0,88 pelo método de Fisher.

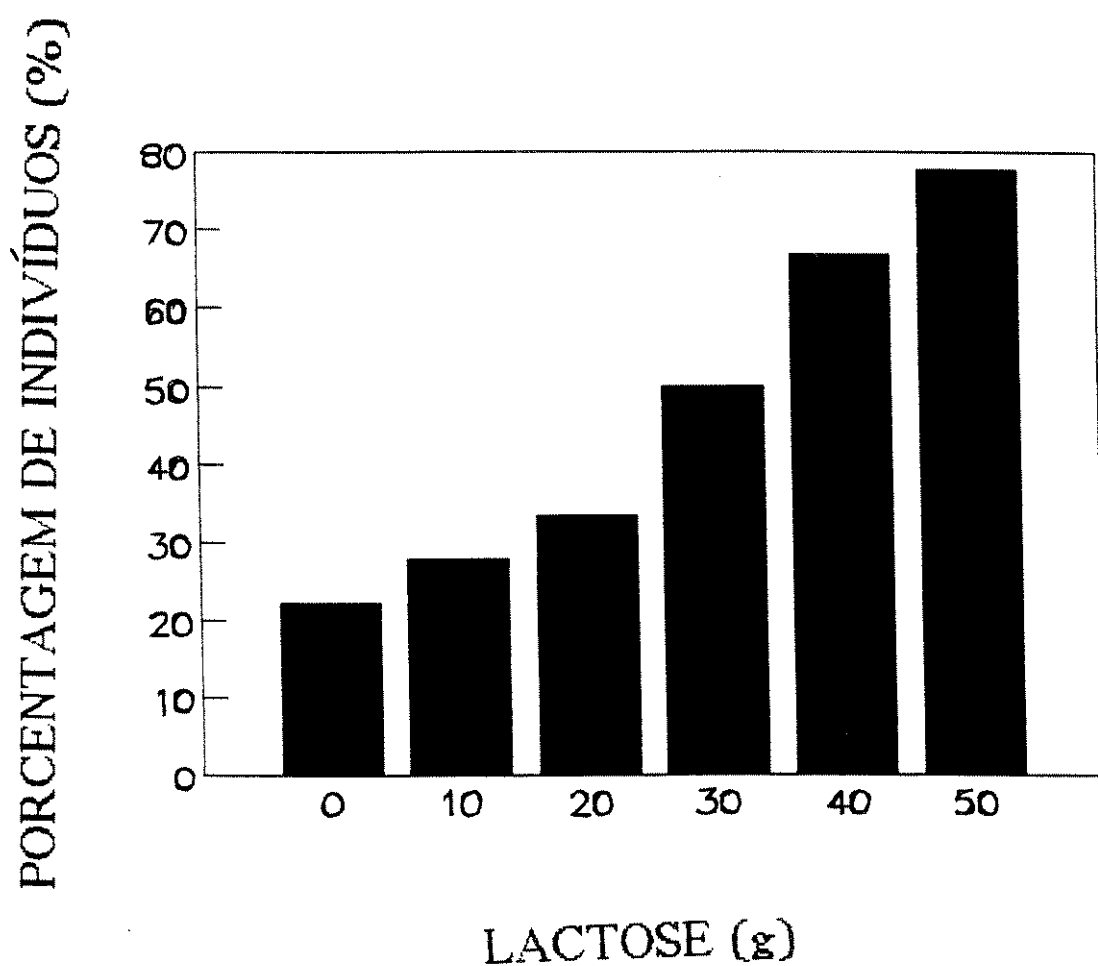


FIGURA 5 - DISTRIBUIÇÃO DOS INDIVÍDUOS COM SINTOMAS DE BAIXA HIDROLISAÇÃO CONFORME DOSE INGERIDA DE LACTOSE

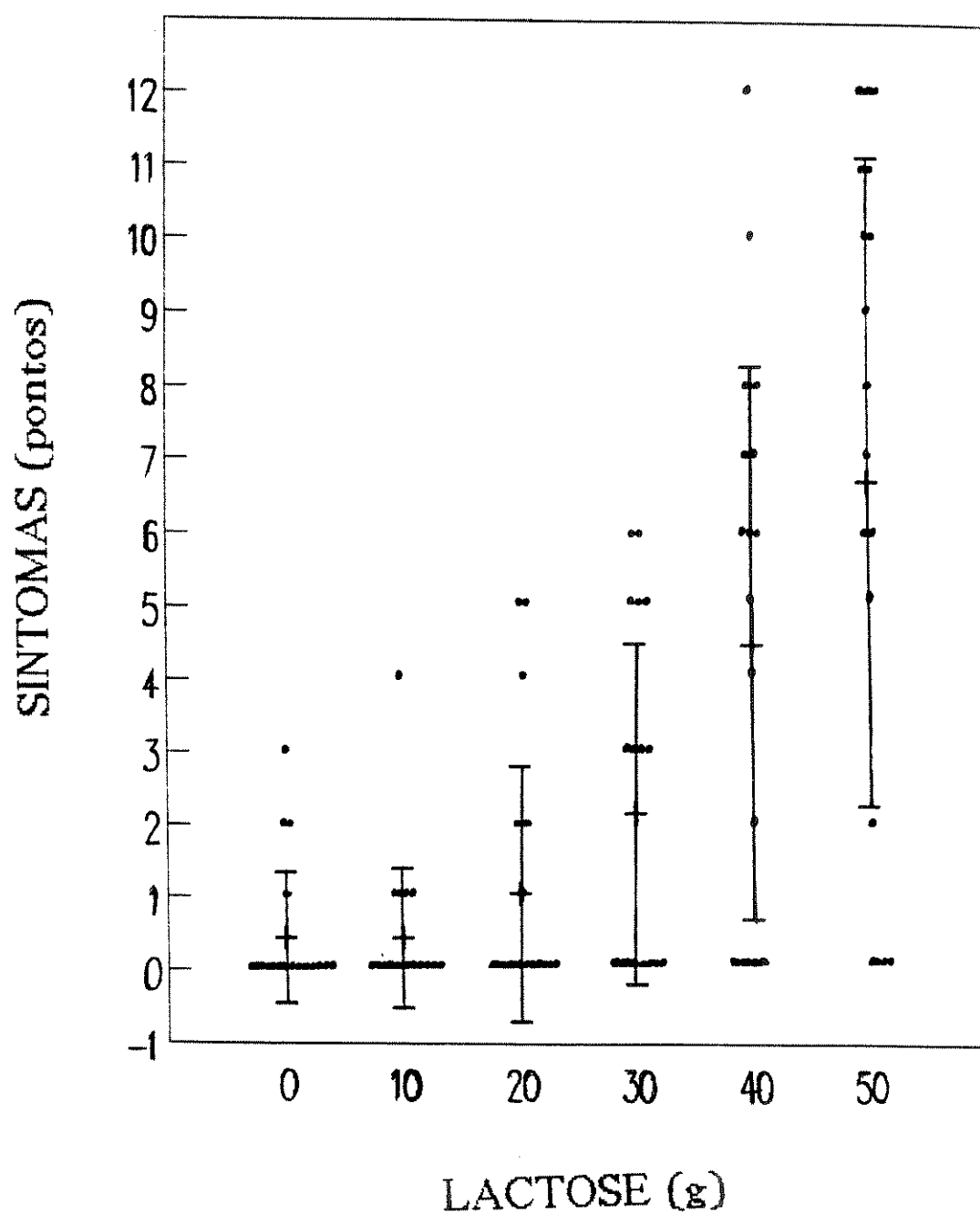


FIGURA 6 - DISTRIBUIÇÃO DOS INDIVÍDUOS CONFORME PONTUAÇÃO DE SINTOMAS DE BAIXA HIDROLISAÇÃO E DOSE INGERIDA DE LACTOSE



#### 6.4. RESPOSTA INDIVIDUAL

A análise individual das curvas glicêmicas mostra as seguintes respostas:

- 1) curva de glicemia crescente com o aumento da dose de lactose, ainda que algumas discretas (figura 7);
- 2) curva de glicemia crescente até determinada dose de lactose, ainda que algumas discretas e/ou com pico duplo em dose de sobrecarga (figura 8); e
- 3) curva de glicemia constante para qualquer dose de lactose (figura 9).

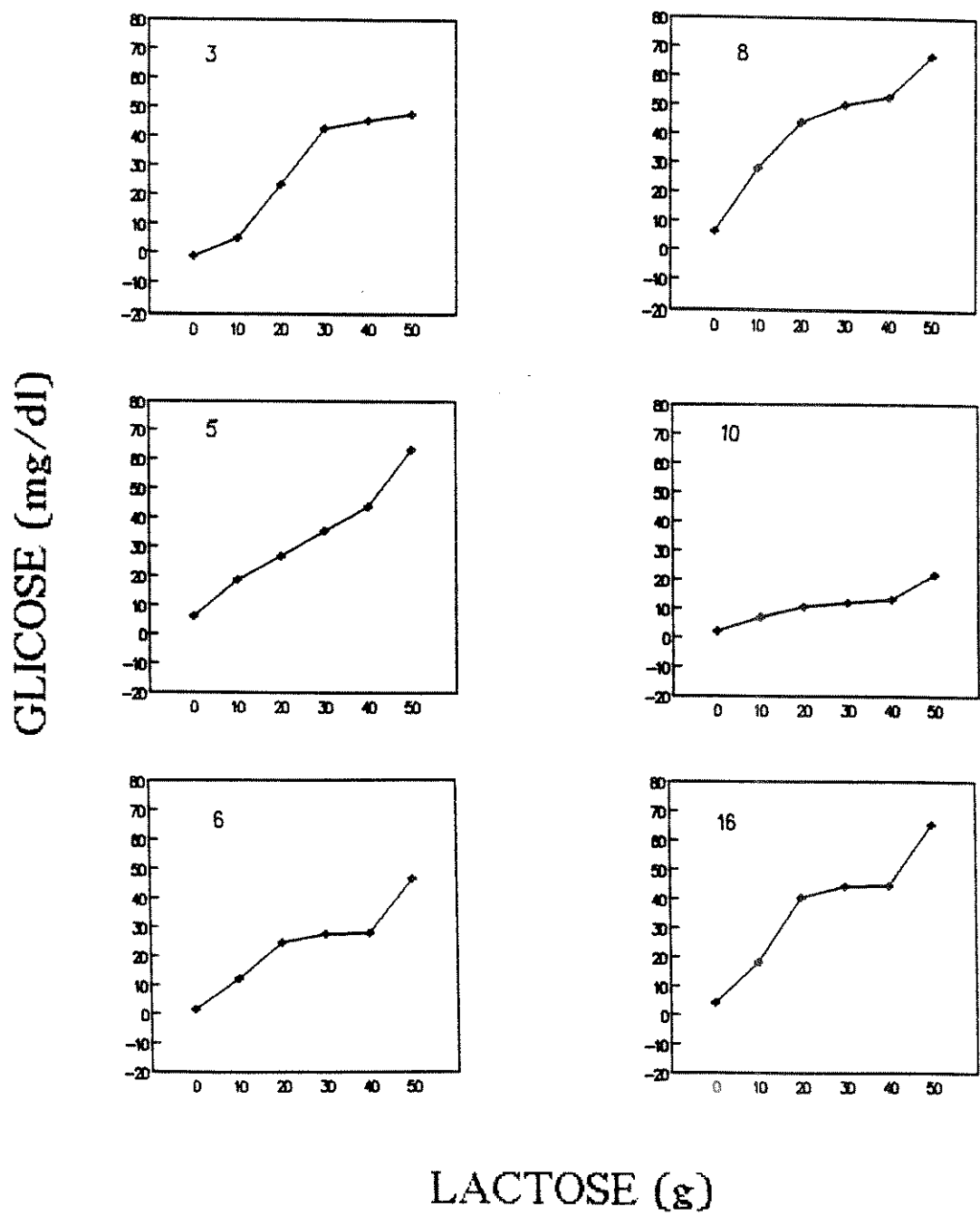


FIGURA 7 - RESPOSTA GLICÊMICA DE INDIVÍDUOS ABSORVEDORES DE DOSES DE ANTIFISIOLÓGICAS DE LACTOSE

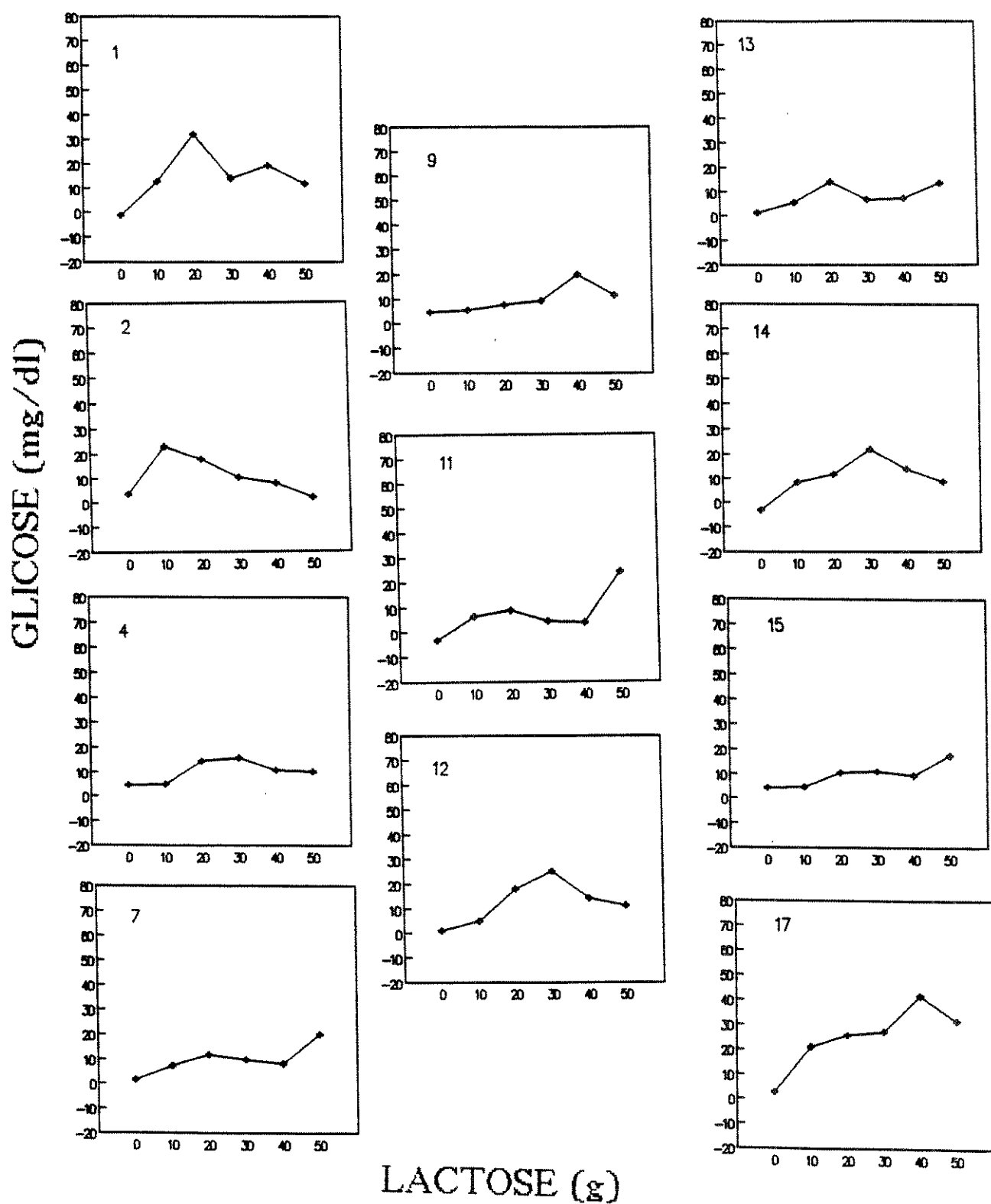


FIGURA 8 - RESPOSTA GLICÊMICA DE INDIVÍDUOS ABSORVEDORES DE DOSES FISIOLÓGICAS DE LACTOSE

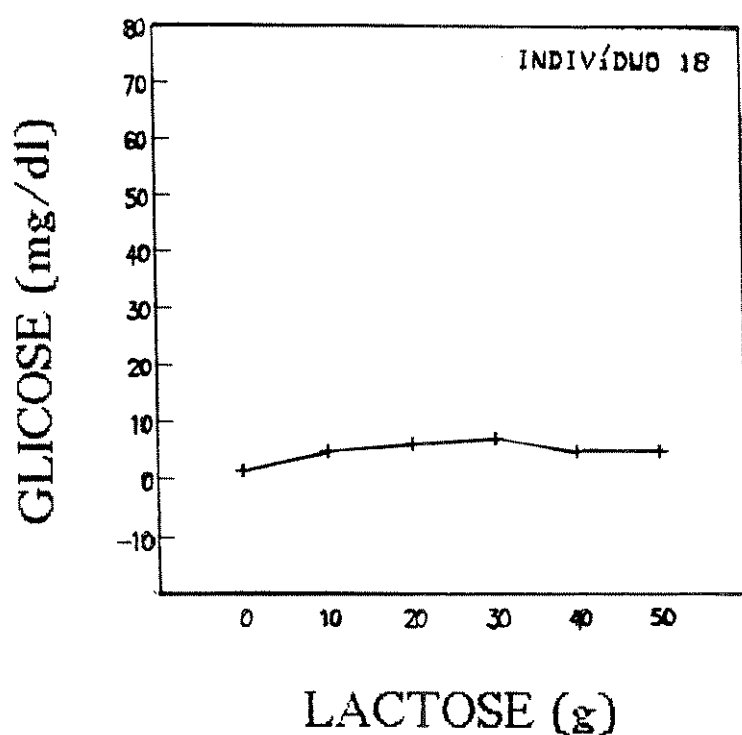


FIGURA 9 - RESPOSTA GLICÊMICA DE INDIVÍDUO MAU ABSORVEDOR DE LACTOSE

No que se refere à presença de sintomas após a ingestão de lactose, foram identificados três tipos de comportamento:

- 1) indivíduos com sintomas crescentes com o aumento da dose de lactose (figura 10);
- 2) indivíduos com sintomas crescentes a partir de determinada dose de lactose (figura 11); e
- 3) indivíduos (5, 6, 8 e 16) assintomáticos para qualquer dose de lactose.

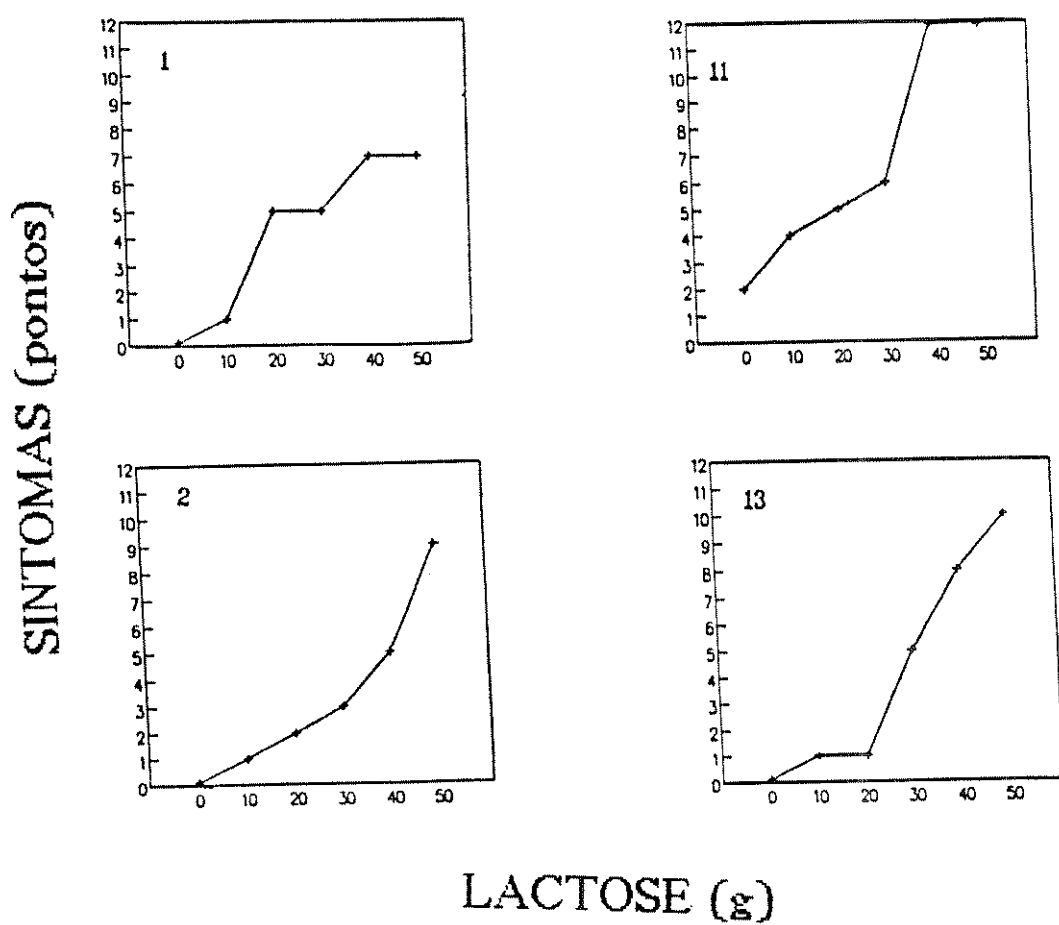
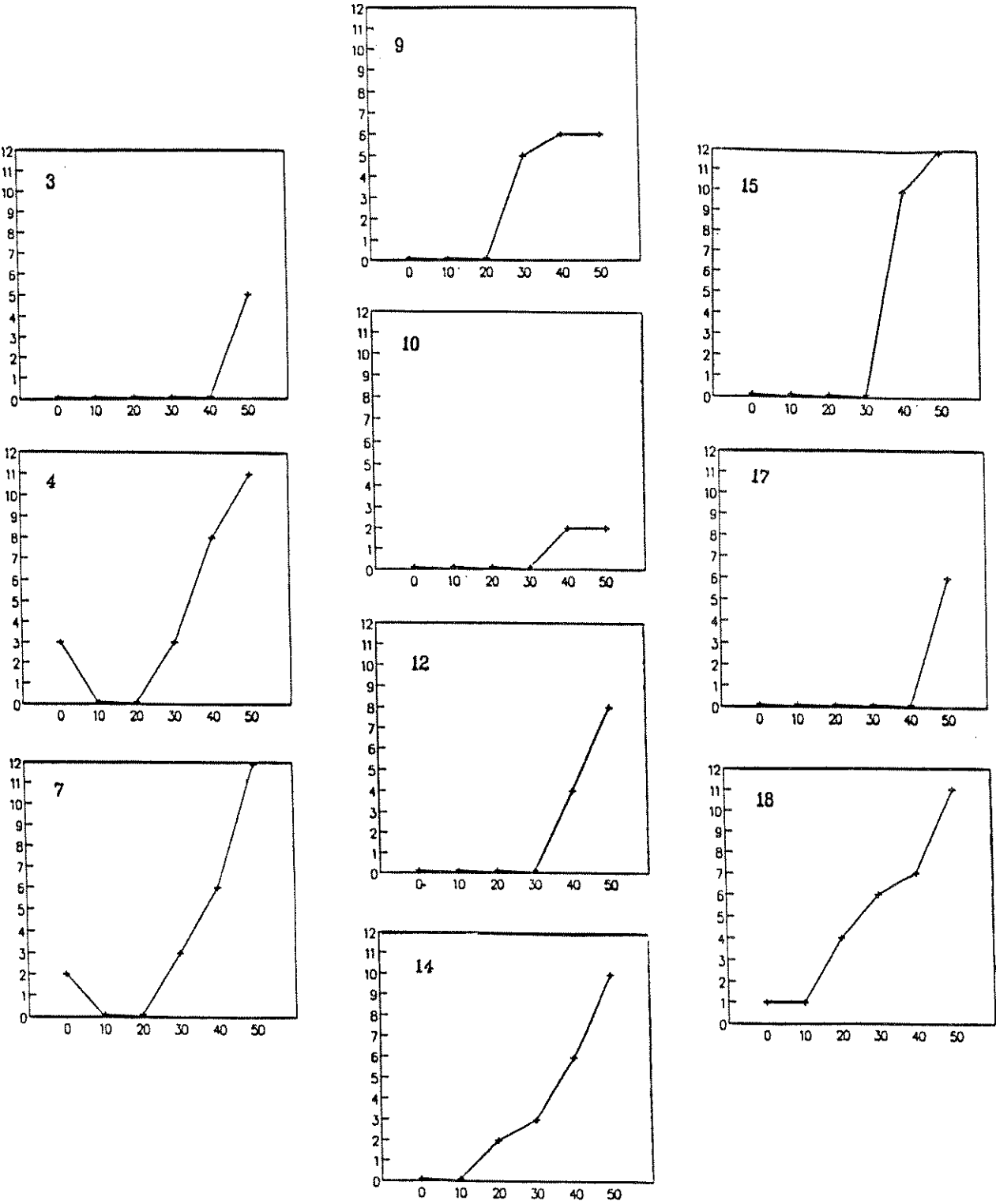


FIGURA 10 - RESPOSTA SINTOMATICA DE INTENSIDADE CRESCENTE CONFORME O AUMENTO DA DOSE DE LACTOSE

SINTOMAS (pontos)



LACTOSE (g)

FIGURA 11 - RESPOSTA SINTOMATICA DE INTENSIDADE CRESCENTE A PARTIR DE DETERMINADA DOSE DE LACTOSE

Basicamente três grupos de indivíduos podem ser identificados quanto à resposta glicêmica e sintomática. Um dos grupos, composto por indivíduos assintomáticos a qualquer das doses recebidas ou com sintomas de baixa hidrolisação com sobrecarga oral de lactose e que apresentam aumento da glicemia com o aumento da dose de lactose, pode ser considerado bom absorvedor e tolerante à lactose em altas doses: até 50 gramas (figura 12), até 40 gramas (figura 13) e até 30 gramas (figura 14).

Um outro grupo, cuja intensidade dos sintomas e a glicemia aumentam com o aumento da dose de lactose, até determinada dose, pode ser caracterizado como absorvedor e tolerante para doses menores de lactose: até 20 gramas (figura 15) e até 10 gramas (figura 16). Doses, coincidentemente, próximas ao consumo habitual de lactose dos indivíduos estudados.

Um terceiro grupo, reporta sintomas de intolerância à lactose, mesmo em pequenas doses, que aumentam conforme o aumento da dose de lactose, e baixa variação do pico de glicemia, podendo ser considerado mau absorvedor e intolerante para todas as doses testadas (figura 17).

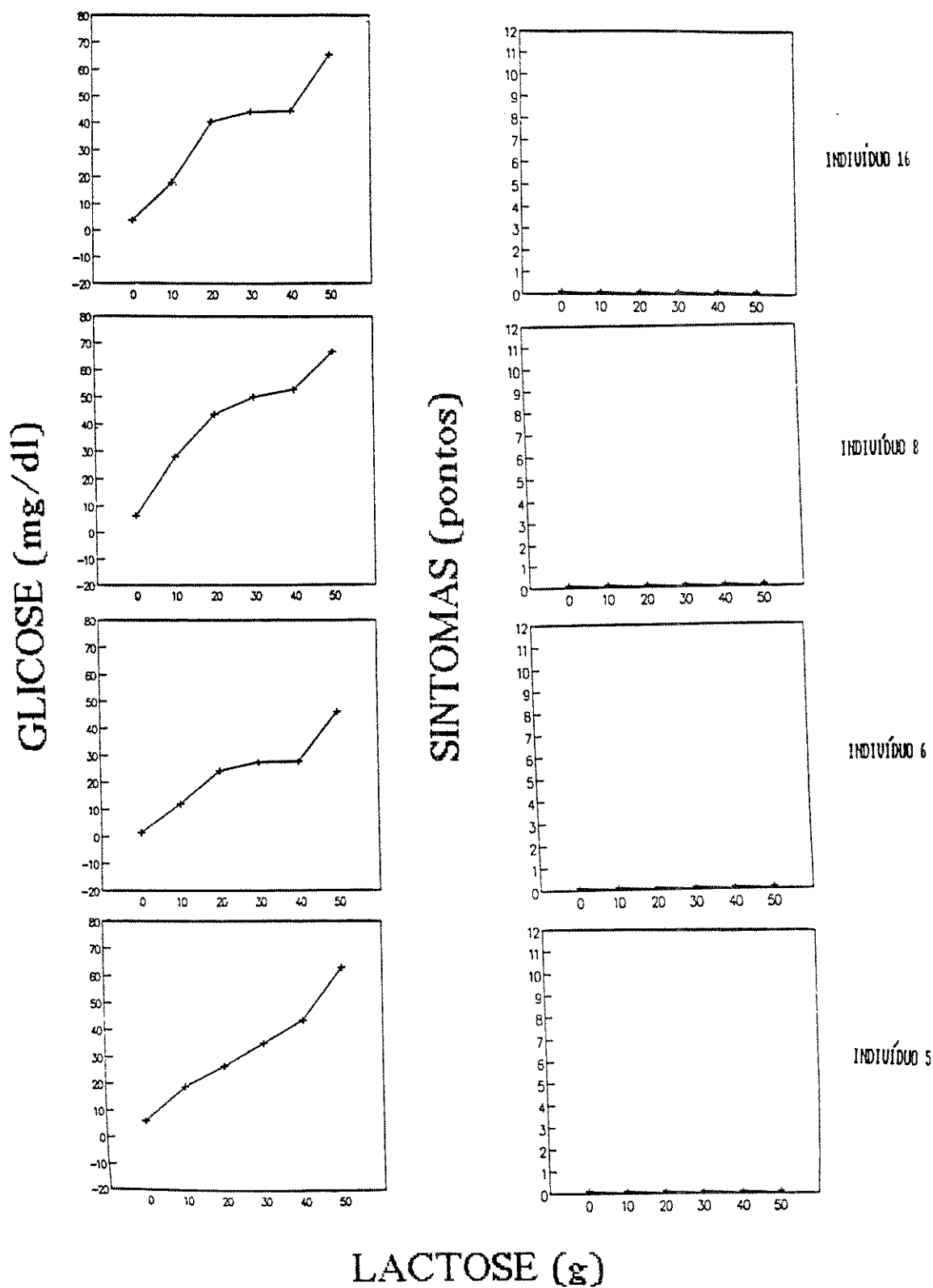


FIGURA 12 - RESPOSTA GLICÊMICA E SINTOMÁTICA CONFORME A DOSE INGERIDA DE LACTOSE DE INDIVÍDUOS ABSORVEDORES E TOLERANTES ATÉ 50 GRAMAS DE LACTOSE



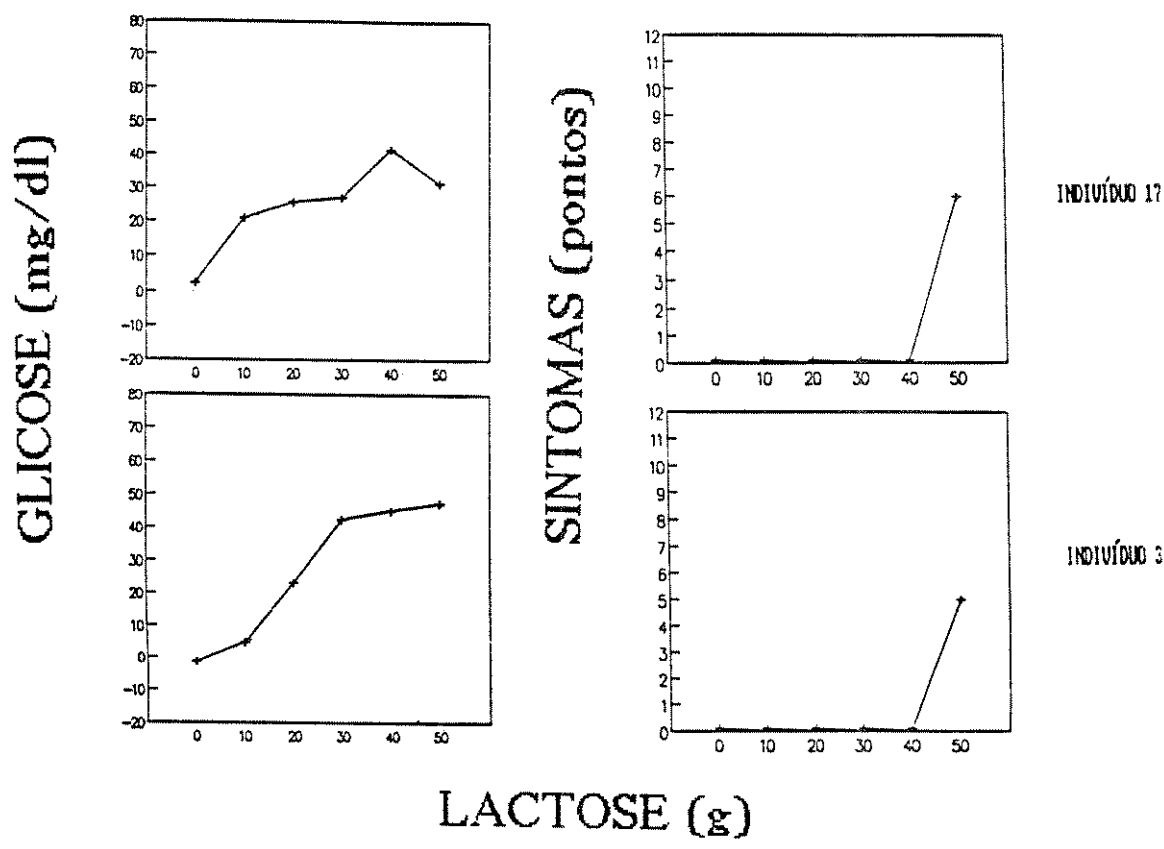


FIGURA 13 - RESPOSTA GLICÊMICA E SINTOMÁTICA CONFORME A DOSE INGERIDA DE LACTOSE DE INDIVÍDUOS ABSORVEDORES E TOLERANTES ATÉ 40 GRAMAS DE LACTOSE

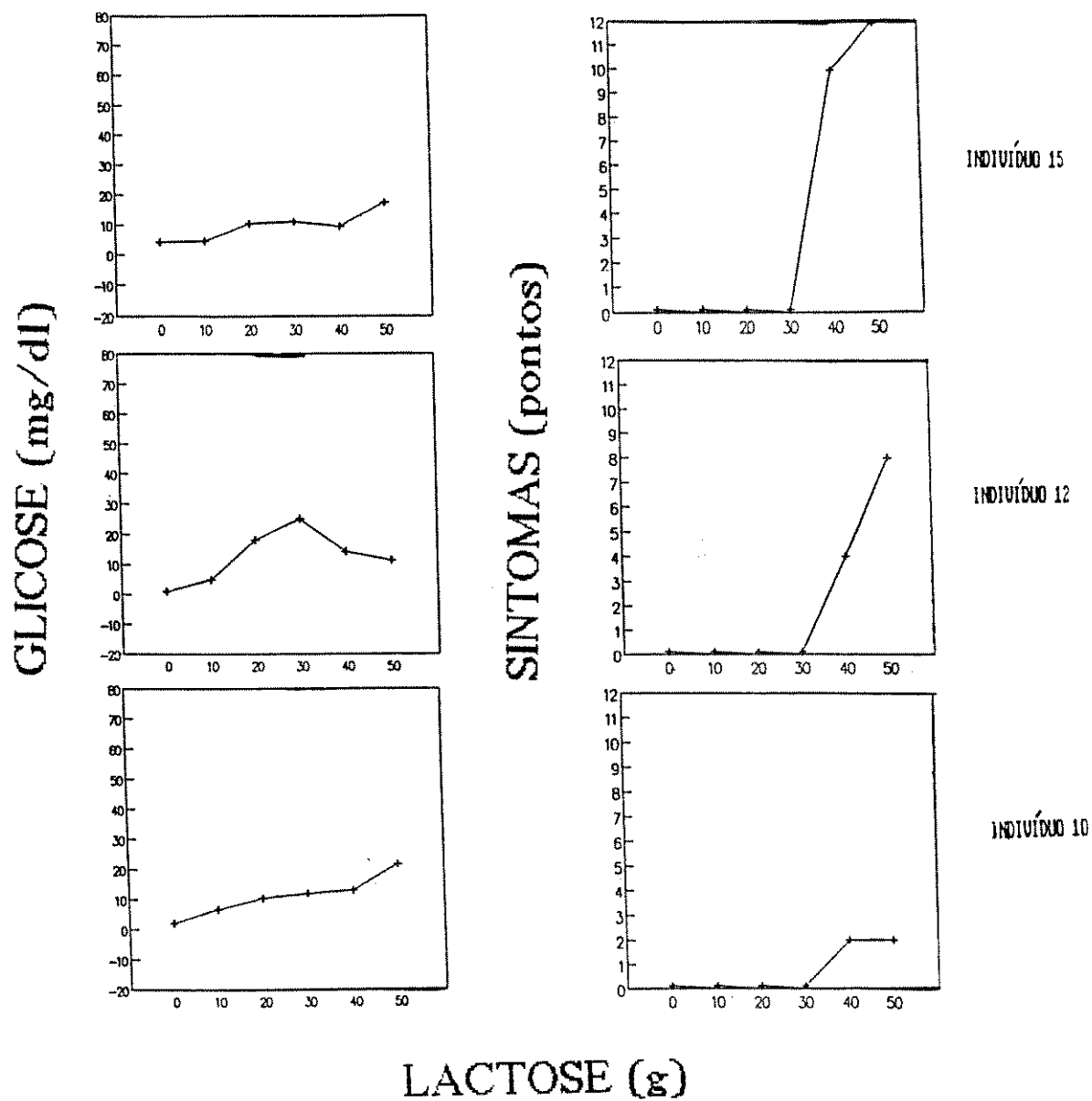


FIGURA 14 - RESPOSTA GLICÊMICA E SINTOMÁTICA CONFORME A DOSE INGERIDA DE LACTOSE DE INDIVÍDUOS ABSORVEDORES E TOLERANTES ATÉ 30 GRAMAS DE LACTOSE

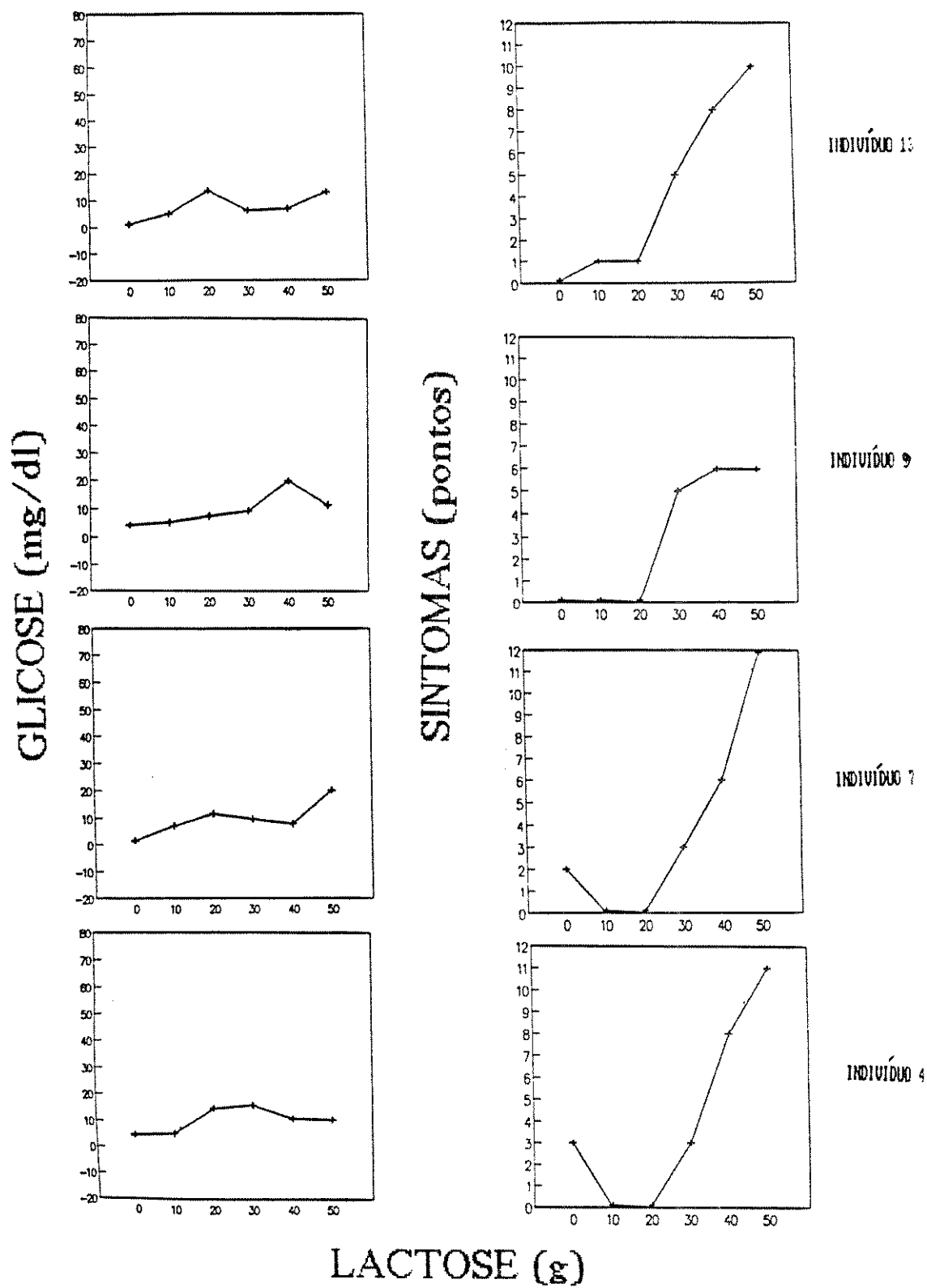


FIGURA 15 - RESPOSTA GLICÊMICA E SINTOMÁTICA CONFORME A DOSE INGERIDA DE LACTOSE DE INDIVÍDUOS ABSORVEDORES E TOLERANTES ATÉ 20 GRAMAS DE LACTOSE

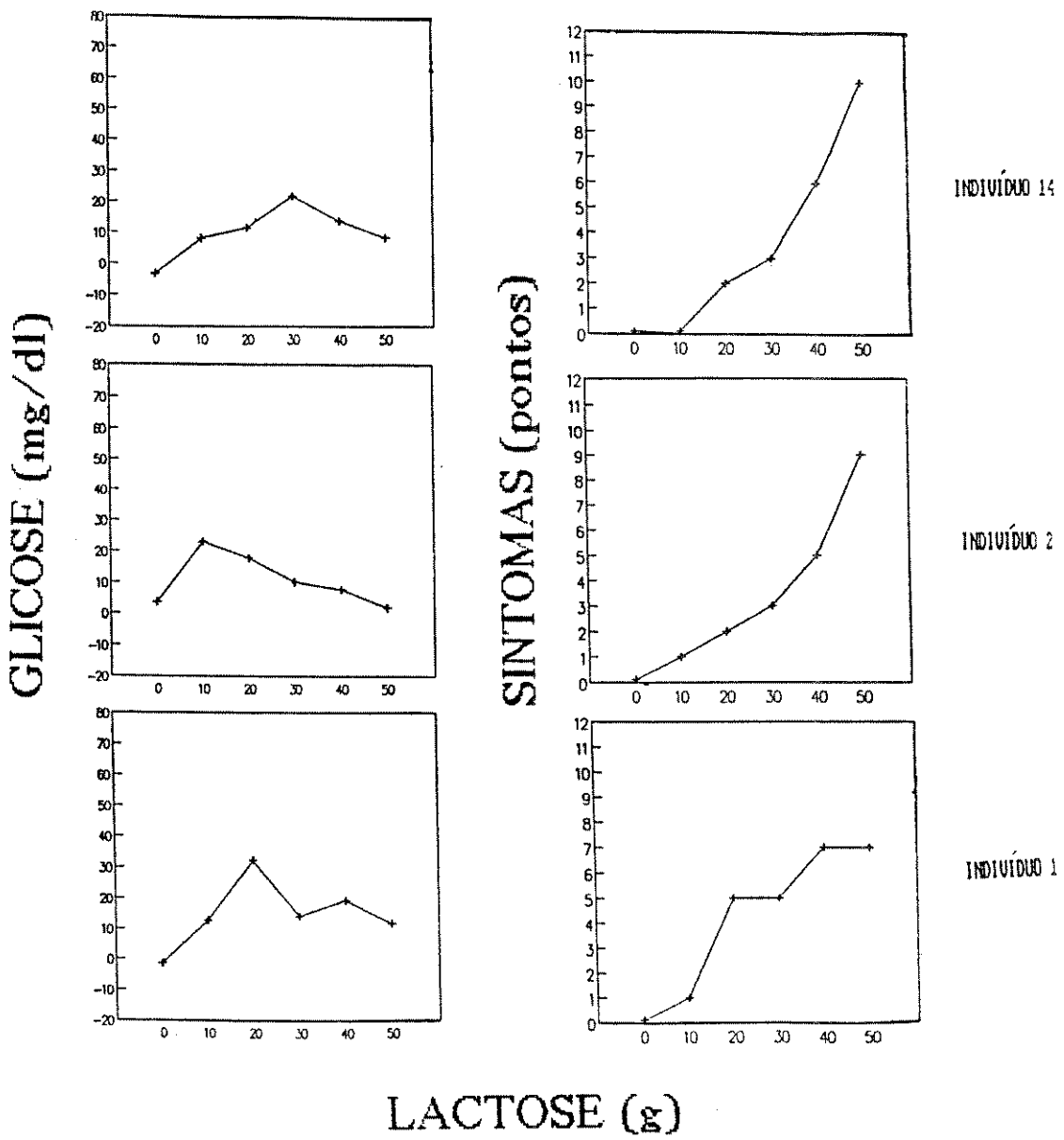


FIGURA 16 - RESPOSTA GLICÊMICA E SINTOMÁTICA CONFORME A DOSE INGERIDA DE LACTOSE DE INDIVÍDUOS ABSORVEDORES E TOLERANTES ATÉ 10 GRAMAS DE LACTOSE

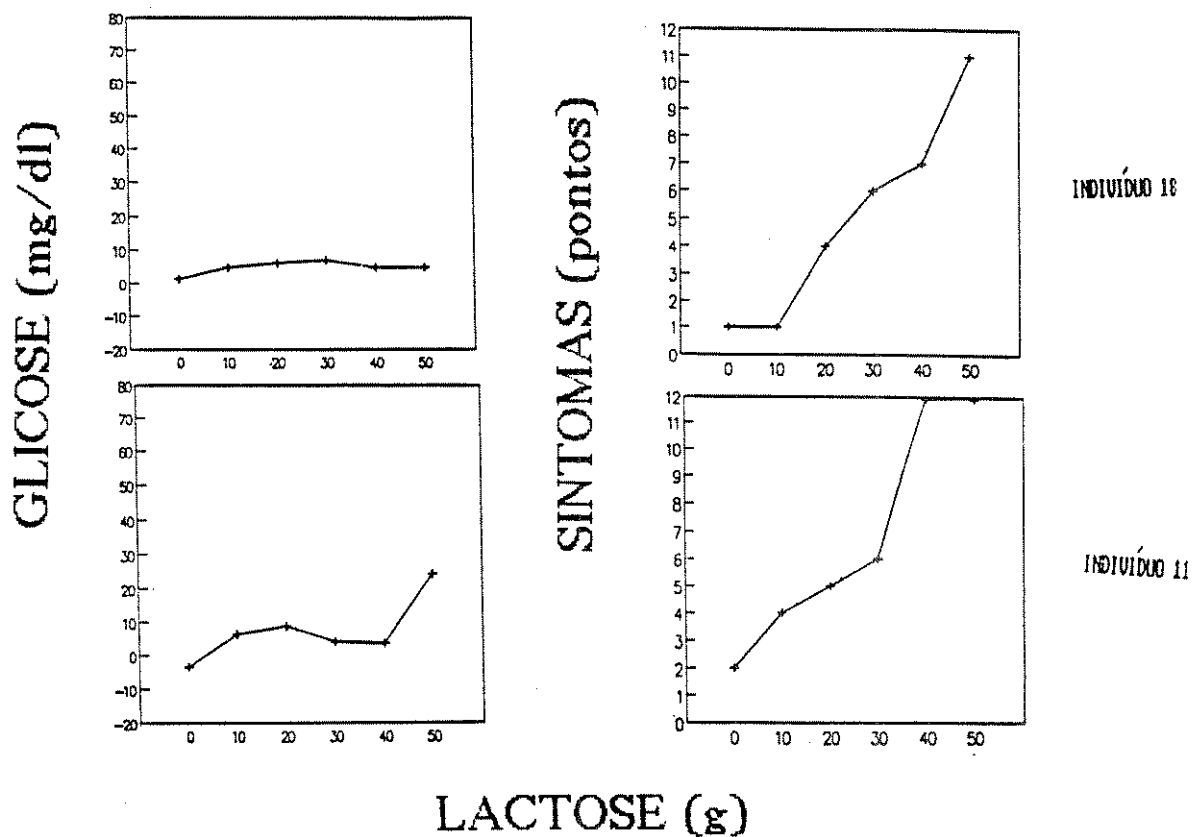


FIGURA 17 - RESPOSTA GLICÊMICA E SINTOMÁTICA CONFORME A DOSE INGERIDA DE LACTOSE DE INDIVÍDUOS MAUS ABSORVEDORES E INTOLERANTES A LACTOSE

Desta forma, apenas 4 indivíduos (22%) toleram sobrecarga de 50 gramas de lactose, 6 (33%) toleram 40 gramas e 9 (50%) toleram 30 gramas. Enquanto que 13 (72%) toleram 20 gramas e 16 (89%) toleram 10 gramas. Somente 2 indivíduos (11%) não toleraram as doses de lactose ministradas (figura 18). Observa-se que o limiar individual de hidrolisação indireta de lactose, para a maior parte do grupo estudado, situa-se próximo à dose dietética de lactose ingerida diariamente.

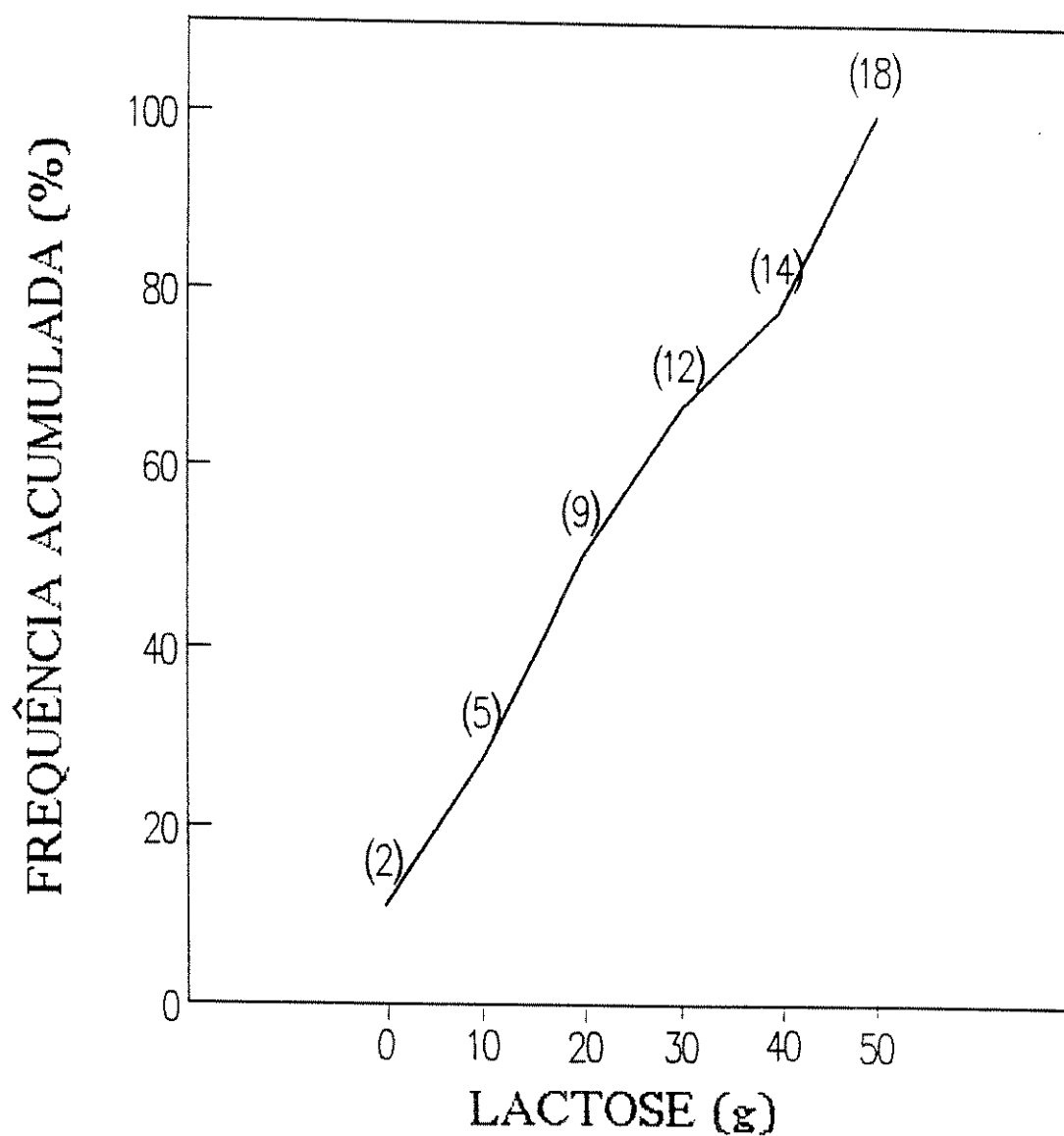


FIGURA 18 - FREQUÊNCIA ACUMULADA DOS INDIVÍDUOS CONFORME LIMAR DE HIDROLISAÇÃO INDIRETA DE LACTOSE

#### 6.5. LEITE COM BAIXO TEOR DE LACTOSE

Após hidrólise do leite integral obteve-se cerca de 80% de redução do teor de lactose inicial por ação enzimática.

#### 6.6. ANÁLISE SENSORIAL

O painel de experimentadores foi capaz de diferenciar o leite com baixo teor de lactose em relação ao padrão (leite integral) ao nível de 5% (Teste de Tuckey), por meio do Método de Escala Hedônica. Obteve 61% de preferência ao nível de 10% de significância (Teste Bicaudal). A maior parte dos comentários refere o sabor adocicado como fator principal para a melhoria do sabor do produto testado e, consequente, preferência. Observou-se que a maior parte dos provadores consome leite frequentemente (figura 19).

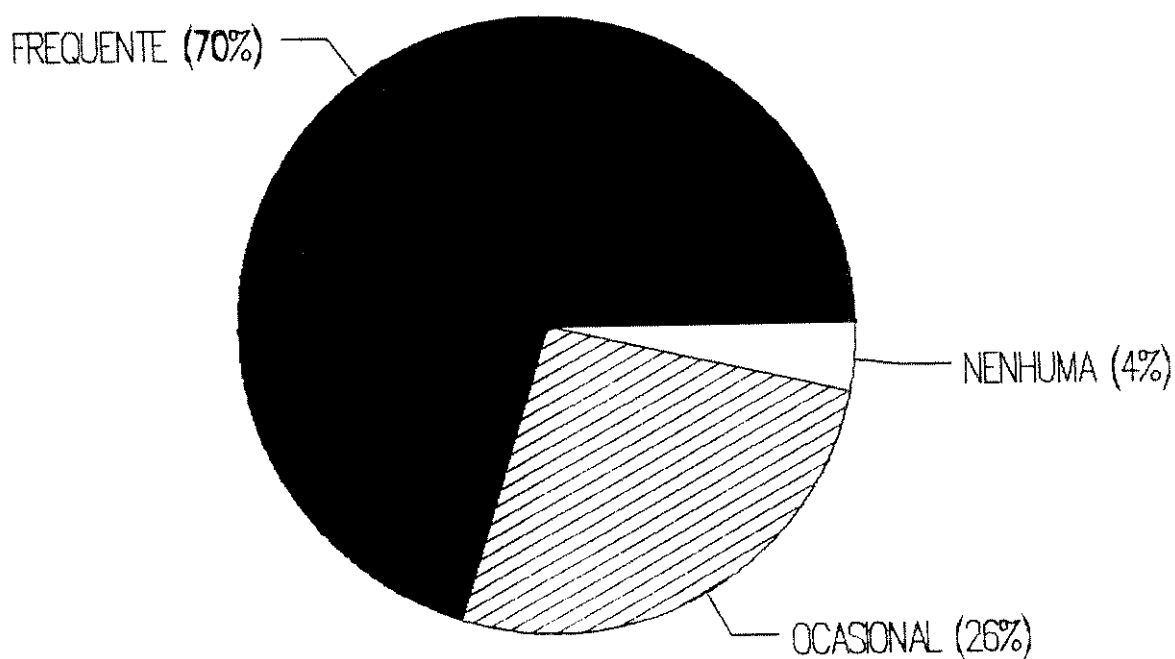


FIGURA 19 - DISTRIBUIÇÃO DOS INDIVÍDUOS (TOTAL) CONFORME FREQUÊNCIA DE CONSUMO DE LEITE

## 6.7. RESPOSTA METABÓLICA

Dos 4 indivíduos estudados, 2 (indivíduos 1 e 2) relatam forte aversão ao leite, tendo deixado de consumi-lo desde a infância, por apresentarem desconforto gastrointestinal após a sua ingestão. O terceiro indivíduo menciona o gosto pelo leite, entretanto deixou de consumi-lo há cerca de 14 anos por apresentar flatulência intensa após sua ingestão. O quarto indivíduo consome leite habitualmente. Todos referem consumo frequente de queijo.

Os dados encontrados mostram que, dos 4 indivíduos estudados, 2 (indivíduos 2 e 3) apresentaram alto incremento de  $H_2$  pulmonar após a ingestão de leite integral, podendo caracterizar um quadro de intolerância láctea, apesar do não aumento da intensidade de sintomas em relação ao leite com baixo teor de lactose. Os outros 2 indivíduos (1 e 4) não apresentaram grande variação do  $H_2$  pulmonar com a ingestão dos leites testados, nem variação da intensidade de sintomas (figura 20).

A resposta metabólica, por variação do  $H_2$  pulmonar, mostra que, em média, o leite com baixo teor de lactose apresenta menor fermentação intestinal que o leite integral (figura 21). Apesar disto, não houve variação na intensidade dos sintomas relatados.



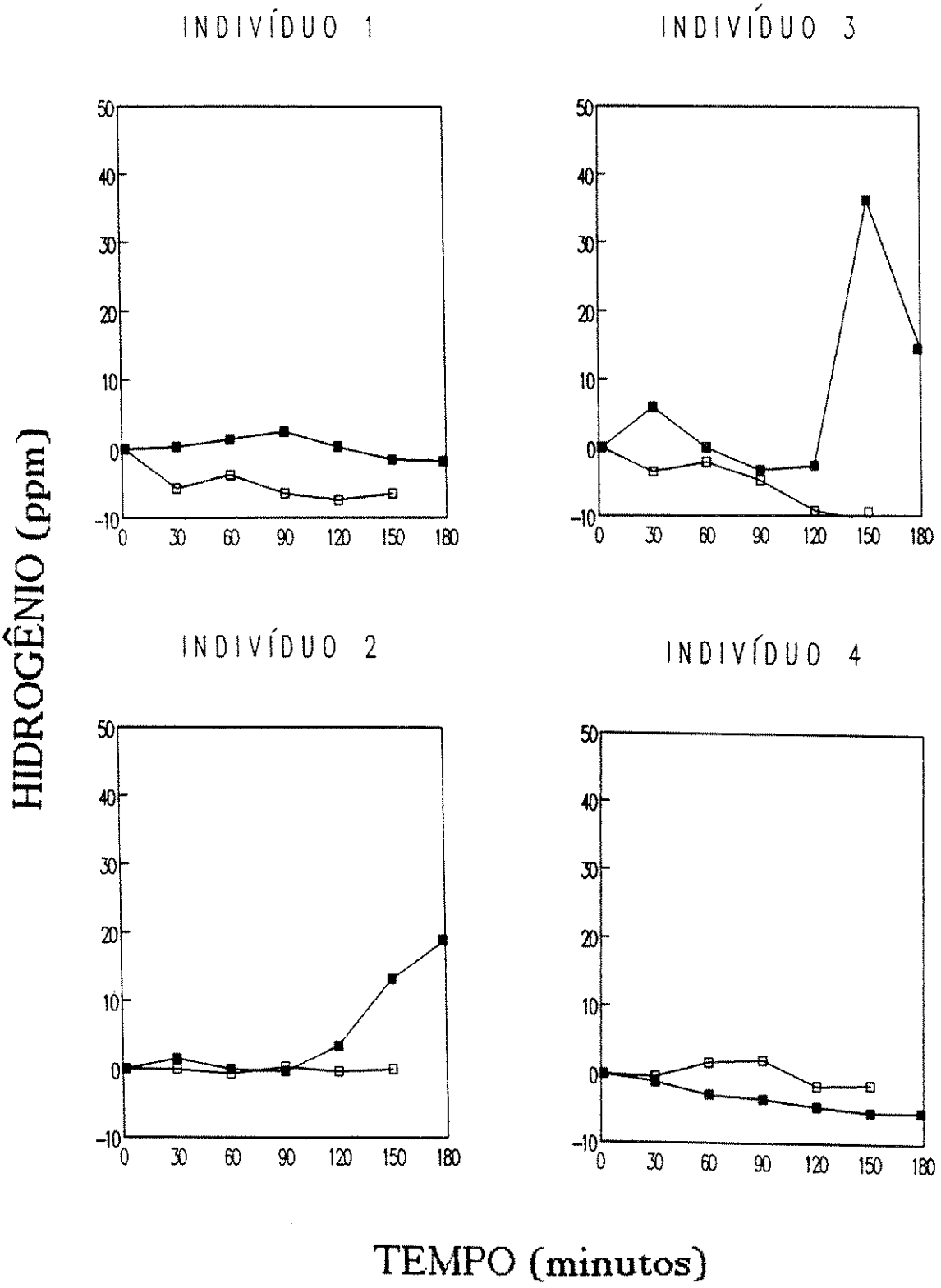


FIGURA 20 - VARIAÇÃO DO H<sub>2</sub> PULMONAR CONFORME O TIPO DE LEITE.

—□— Leite com redução de lactose. —■— Leite integral.

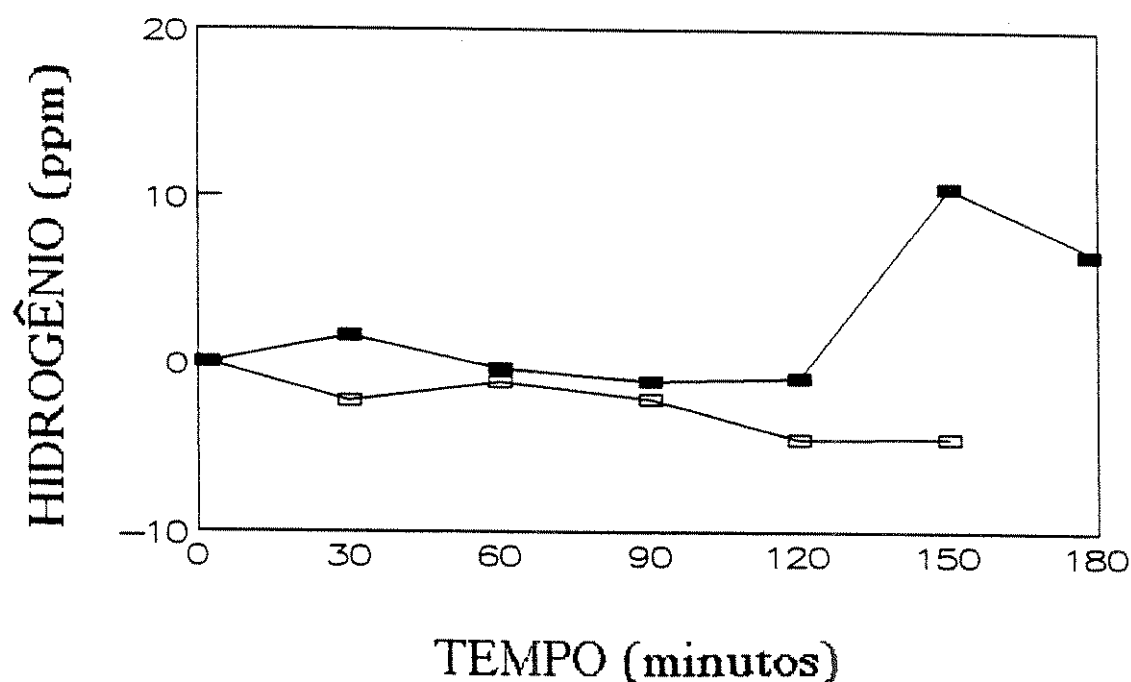


FIGURA 21 - VARIAÇÃO MÉDIA DO  $H_2$  PULMONAR CONFORME O TEMPO E TIPO DE LEITE INGERIDO. —□— Leite com redução de lactose. —■— Leite integral.

Os indivíduos 1 e 3 apresentaram diminuição do  $H_2$  pulmonar de jejum no segundo teste, o que pode ser explicado pela composição da dieta pré-jejum, composta por alimentos menos fermentescíveis que os consumidos no primeiro teste. O indivíduo 4, por sua vez, apresentou aumento do  $H_2$  de jejum no segundo teste, apesar da ingestão de uma dieta menos fermentescível. No entanto, relata ter dormido pouco na noite anterior ao teste, o que certamente interfere no metabolismo basal. Este teste, como os anteriores, reforça a resposta metabólica individualizada.

## 7. DISCUSSÃO

A maior parte dos estudiosos considera normal a deficiência primária de lactase. No entanto, alguns grupos étnicos mantêm atividade enzimática relativamente alta na idade adulta, decorrente de uma mutação genética (BAYLESS e ROSENSWEIG, 1966; SIMOONS, 1978; CIFUENTES e colaboradores, 1985).

O diagnóstico da deficiência de lactase, por métodos diretos e/ou indiretos, tem sido realizado, em geral, com doses antifisiológicas de lactose. As doses, normalmente usadas, equivalem à quantidade de lactose presente em 1 litro de leite, de modo que a lactose fornecida ultrapassa a capacidade fisiológica normal de digestão. Desta forma, alterações fisiológicas, resultantes da baixa hidrolisação da lactose, interferem diretamente nos resultados, levando à uma superestimação de lactase-deficientes, lactose-intolerantes e/ou lactose-maus absorvedores (BEDINE e BAYLESS, 1973; STEPHESON, 1974; BAYLESS e colaboradores, 1975; VILLIERS, 1987)

Neste sentido, este estudo enfatiza a avaliação da absorção e tolerância à lactose em diferentes doses, fisiológicas e anti-fisiológicas.

A literatura relata que a incidência de sintomas de baixa hidrolisação de lactose aumenta com o aumento da dose ingerida de lactose (BEDINE e BAYLESS, 1973; GARZA e SCRIMSAHAW, 1976; GUDMAN-HOYER e SIMONY, 1977; HAVERBERG e colaboradores, 1980; CAVALLI-SFORZA e colaboradores, 1986; CHANG, 1987).

Nossos dados reforçam os achados anteriores no que se refere à sintomatologia e mostram que a elevação glicêmica é diretamente proporcional à dose ingerida de lactose. Além disto, demonstrou-se que há limiares individuais de absorção de lactose, de modo que cada indivíduo pode absorver e tolerar doses diferentes de lactose, sendo que a dose de lactose limite para o aparecimento de sintomas de baixa hidrolisação de lactose situa-se próxima à da ingesta diária referida de leite.

Além da dose ingerida de lactose, vários outros fatores interferem na resposta individual, como: dieta pré-jejum, duração do jejum, tempo de esvaziamento gástrico, tempo de trânsito intestinal, flora bacteriana intestinal, metabolismo intermediário dos carboidratos, consumo endógeno de glicose (BOND e LEVITT, 1972; NEWCOMER e MCGILL, 1984; BERG e colaboradores, 1985; ABRAMOWITZ e colaboradores, 1986b; CAVALLI-SFORZA e STRATA, 1986; VILLIERS, 1987).

BOZZANI e colaboradores (1986), CAVALLI-SFORZA e colaboradores (1987) obtiveram valores semelhantes aos da ingestão habitual de lactose como dose limite de tolerância. Quanto à glicemia, dos trabalhos estudados, apenas OROZCO-DURAN (1987) utilizou dose (20 gramas) compatível ao consumo habitual de lactose da população pesquisada, obtendo alto índice de absorção da lactose, confirmando também o alto grau de hidrólise por prova de excreção pulmonar de  $H_2$ . Na literatura consultada, não consta nenhuma referência ao estudo da variação da glicemia com doses crescentes de lactose.

Segundo Dalqvist, citado por ROSADO (1986), na idade adulta, a atividade residual de lactase se mantém em torno de 5-10%, o que permite o consumo diário de pequenas quantidades de leite, sem manifestação de sintomas de baixa hidrolisação de lactose. No entanto, a maior parte da população com deficiência primária de lactase deixa de consumir o leite devido ao desconforto gástrico-intestinal provocado quando da sua ingestão. Isto acarreta um baixo aporte dietético de cálcio. Desta forma, é fundamental a determinação do limite de hidrolisação de lactose, neste grupo.

Por outro lado, a deficiência secundária de lactase pode ser desencadeada por uma série de patologias que causam dano à mucosa intestinal: doença celíaca, esprue tropical, desnutrição grave, diarreia aguda, algumas parasitoses,

inflamações e neoplasias (DAVIDSON, 1984; ROSADO, 1986; SAVAIANO e LEVITT, 1987).

No Brasil, a desnutrição grave e a diarreia aguda atingem grande parte da população infantil, onde o leite é tido como alimento básico da dieta. Nestes casos, a diarreia, própria das doenças citadas aliada à diarreia provocada pela fermentação da lactose não hidrolisada, leva à má absorção dos demais nutrientes do leite, agravando o quadro patológico. De outra forma, a suspensão do leite da alimentação da criança, apesar de garantir o não agravamento da diarreia osmótica, pode levar a um aporte deficiente de proteínas de alto valor biológico e de calorias, necessários à recuperação do organismo e da própria mucosa intestinal.

Atualmente, são utilizadas principalmente fórmulas à base de carne e leite integral deslactosado no tratamento dietético de crianças com deficiência secundária de lactose. Problemas quanto à aceitação das fórmulas são muito frequentes, além do discutível aporte calórico e proteico.

Alguns trabalhos, descritos a seguir, mostram que crianças desnutridas, tratadas com leite integral e leite com baixo teor de lactose por hidrólise enzimática, apresentam boa recuperação clínica. Entretanto, para o sucesso do tratamento é necessário cautela no uso do leite integral. NEWCOMER e MCGILL (1984), TOLBOOM e colaboradores (1984)

recomendam o uso de pequenas quantidades de leite. SOLOMONS e colaboradores (1984), TORUN e colaboradores (1984), por sua vez, argumentam que o uso de leite integral é adequado, desde que seja introduzido gradativamente. O uso do leite integral, segundo estes autores, apesar de levar a um maior número de episódios diarreicos, não mostrou diferença significativa em relação ao crescimento de crianças desnutridas quando comparado com o leite com baixo teor de lactose.

O leite com baixo teor de lactose tem sido recomendado, por vários pesquisadores (BRAND e DARNTON-HILL, 1986; BARILLAS e SOLOMONS, 1987; McDONOUGH e colaboradores, 1987), tanto para indivíduos com deficiência primária como secundária de lactose.

O leite testado, neste estudo, apresentou bom índice de hidrólise de lactose e aceitação sensorial, o que pode ser atribuído ao sabor levemente adocicado como é do hábito alimentar do brasileiro.

O teste de excreção de  $H_2$  pulmonar mostrou-se sensível na detecção de pequenas quantidades de lactose fermentada no intestino delgado. Verificou-se que o leite com baixo teor de lactose apresenta resposta metabólica compatível com o grau de hidrólise de lactose obtido por ação enzimática. Estes dados vão de encontro aos obtidos em outros estudos

(RAO e colaboradores, 1985; SOLOMONS e BARILLAS, 1986; BARILLAS e SOLOMONS, 1987; McDONOUGH e colaboradores, 1987).

Da mesma forma que a resposta glicêmica, o teste de  $H_2$  pulmonar também sofre a interferência dos mesmos fatores na resposta individual (BOND e LEVITT, 1976; BERG e colaboradores, 1985). O que foi verificado quanto à dieta pré-jejum, tempo de esvaziamento gástrico e metabolismo basal.

O ensaio, utilizando o teste do  $H_2$  pulmonar, foi importante pela sua especificidade e sensibilidade na determinação indireta da quantidade de lactose não absorvida, apesar do pequeno número de indivíduos estudados.



## 8. CONCLUSÕES

A partir de uma população estudada de 18 elementos, que referiu frequência de ingestão de leite, encontrou-se alta correlação entre dose ingerida de lactose e elevação glicêmica ( $r=0,89$ ).

Verificou-se, também, alta correlação da dose ingerida de lactose com intensidade de sintomas de intolerância ( $r=0,88$ ). Sendo que, para a maior parte dos indivíduos estudados, a dose de lactose limite para o aparecimento de sintomas de baixa hidrolisação está próxima à quantidade de lactose presente nos leites habitualmente consumidos, a qual situa-se no intervalo entre 20 a 30 gramas, correspondente a cerca de 400 a 600 ml de leite integral.

O leite com lactose hidrolisada teve boa avaliação sensorial, podendo ser recomendado para indivíduos lactase-deficientes, principalmente no tratamento dietético de crianças com deficiência secundária de lactase.

O leite com baixo teor de lactose (cerca de 1%) revelou boa aceitação metabólica, pelo teste de  $H_2$  pulmonar, quando comparado ao leite integral. No entanto, não houve alteração na intensidade dos sintomas reportados após a ingestão de qualquer dos leites testados.

## 9. RECOMENDAÇÃO

Para fins comerciais poderia ser indicada a hidrolisação enzimática de produtos lácteos, direcionados para aqueles indivíduos com deficiência enzimática primária ou secundária, embora deva-se considerar que o grande contingente da população brasileira apresenta baixo poder aquisitivo, o que compromete a aquisição deste produto a nível familiar. Recomenda-se a utilização, a nível institucional, do leite com baixo teor de lactose no tratamento dietético de pacientes hospitalizados, com deficiência secundária de lactose.

## 10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABRAMOWITZ, A.; GRANOT, E.; TAMIR, I. & DECKELBAUM, R.J.  
Two-hour lactose breath hydrogen test. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 5:130-3, 1986a.
2. ABRAMOWITZ, A.; GRANOT, E.; TAMIR, I. & DECKELBAUM, R.J.  
Two-hour lactose breath H<sub>2</sub> test. *J. Pediatr. Gastroenterol.*, 5: 996-7, 1986b.
3. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. *Methods of analysis*, 10<sup>th</sup> ed. Washington, AOAC, 1965.
4. BARILLAS, C. & SOLOMONS, N.W. Effective reduction of lactose maldigestion in preschool children by direct addition of beta-galactosidases to milk at mealtime. *Pediatrics*, 79: 766-72, 1987.
5. BAYLESS, T.M. & ROSENSWEIG, N.S. A racial difference in incidence of lactase deficiency. *JAMA*, 197: 138-42, 1966.
6. BAYLESS, T.M.; ROTHFELD, B.; MASSA, C. WISE, L.; PAIGE, D. & BEDINE, M.S. Lactose and milk intolerance: clinical implications. *New England J. Med*, 292: 1156-9, 1975.
7. BEDINE, M.S. & BAYLESS, T.M. Intolerance of small amounts of lactose by individuals with low lactase levels. *Gastroenterology*, 65: 735-43, 1973.

8. BERG, A.; ERIKSSON, M.; BARANY, F.; EINARSSON, K.; SUNDGREN, H.; NYLANDER, C.; LUNDSTROM, I. & BLOMSTRAND, R. Hydrogen concentration in expired air analyzed with a new hydrogen sensor, plasma glucose rise, and symptoms of lactose intolerance after oral administration of 100 gram lactose. *Scand.J. Gastroenterol.*, 20: 814-22, 1985.
9. BERQUÓ, E.S.; SOUZA, J.M.P. & GOTLIEB, S.L.D. *Bioestatística*, São Paulo, EPU, 1981.
10. BOND, J.H. & LEVITT, M.D. Quantitative measurement of lactose absorption. *Gastroenterology*, 70: 1058-62, 1976.
11. BOND, J.H. & LEVITT, M.D. Use of pulmonary hydrogen (H<sub>2</sub>) measurements to quantitate carbohydrate absorption. *J.Clin.Invest.*, 51: 1219-25, 1972.
12. BOZZANI, A.; PENAGINI, R.; VELIO, P. CAMBONI, G.; CORBELLINI, A.; QUATRINI, M.; CONTE, D. & BIANCHI, P.A. Lactose malabsorption and intolerance in italians. Clinical implications. *Dig.Dis.Sci.*, 31: 1313-6, 1986.
13. BRAND, J.C. & DARNTON-HILL, I. Lactase deficiency in australian school children. *Med.J.Aust.*, 145: 318-22, 1986.
14. CALLOWAY, D.H. Respiratory hydrogen and methane as affected by consumption of gas-forming foods. *Gastroenterology*, 51: 383-9, 1966.

15. CAVALLI-SFORZA, L.T. & STRATA, A. Double-blind study on the tolerance of four types of milk in lactose malabsorbers and absorbers. *Human nutr: clin.nutr.*, **40**: 19--30, 1986.
16. CAVALLI-SFORZA, L.T.; STRATA, A.; BARONE, A. & CUCURACHI, L. Primary adult lactose malabsorption in Italy: regional differences in prevalence and relationship to lactose intolerance and milk consumption. *Am.J.Clin.Nutr.*, **45**: 748-54, 1987.
17. CERIANI, R.; ZUCCATO, E.; FONTANA, M.; ZUIN, G.; FERRARI, L.; PRINCIPI, S.; PACCAGNINI, S. & MUSSINI, E. Lactose malabsorption and recurrent abdominal pain in italian children. *J.Ped.Gastroenterol.Nutr.*, **7**: 852-7, 1988.
18. CERIANI, R.; ZUIN, G.; PACCAGNINI, S. & FONTANA, M. Two-hour lactose breath hydrogen tests. *J.Pediatr.Gastroenterol.Nutr.*, **5**: 995-6, 1986.
19. CHANG, M.H.; HSU, H.; CHEN, C.; LEE, C. & HSU, J. Lactose malabsorption and small-intestinal lactase in normal chinese children. *J.Ped.Gastroenterol.Nutr.*, **6**: 369-72, 1987.
20. CHENG, A.H.R.; BRUNSER, O.; ESPINOZA, J.; FONES, H.L.; MONCKEBERG, F.; CHICHESTER, C.O.; RAND, G. & HOURIGAN, A.G. Long-term acceptance of low-lactose milk. *Am.J.Clin.Nutr.*, **32**: 1989-93, 1979.

21. CIFUENTES, E.; FLORES, J.J. & LIMÓN, N.E. Deficiencia de lactasa intestinal en un pueblo Nahuatl: alternativa para los programas de intervención nutricional en la región. *Rev.Invest.Clin.*, **37**: 311-5, 1985.
22. CRUEGER, A. & CRUEGER, W. Carbohydrates. In: KIESLICH, K. *Biotechnology*. V.6a., Weinheim, Verlags Chemie, 1984. p.421-57.
23. DAHLQVIST, A. Method for assay of intestinal disaccharidases. *Anal.Biochem.*, **7**: 18-25, 1964.
24. DAVIDSON, G.P. Lactase deficiency. Diagnosis and management. *Medical J.Australia*, **141**: 442-4, 1984.
25. DEWIT, O.; POCHART, P. & DESJEUX, J.F. Breath hydrogen concentration and plasma glucose, insulin and free fatty acid levels after lactose, milk, fresh or heated yogurt ingestion by healthy young adults with or without lactose malabsorption. *Nutrition*, **4**: 131-5, 1988.
26. DOUWES, A.C.; FERNANDES, J. & RIETVELD, W. Hydrogen breath test in infants and children: sampling and storing expired air. *Clin.Chim.Acta*, **82**: 293-6, 1978.
27. DOUWES, A.C.; OOSTERKAMP, R.F.; FERNANDES, J.; LOS, T. & JONGBLOED, A.A. Sugar malabsorption in healthy neonates estimated by breath hydrogen. *Arch.Dis. Childhood*, **55**: 512-5, 1980.
28. DUARTE, E. & DUTRA DE OLIVEIRA, J.E. Intolerância à lactose em adultos. *Rev.Bras.Pesq.Med.Biol.*, **11**: 105-9, 1978.

29. DUNPHY, J.V.; LITTMAN, A.; HAMMOND, J.B.; FORSTNER, G.; DAHLQVIST, A. & CRANE, R.K. Intestinal lactase deficit in adults. *Gastroenterology*, **49**: 12-21, 1965.
30. ENCK, P. & WHITEHEAD, W.E. Lactase deficiency and lactose malabsorption. A review. *Z.Gastroenterologie*, **24**: 125-34, 1986.
31. FERNANDES, J.; VOS, C.E.; DOUWES, A.C.; SLOTEMA, E. & DEGENHART, H.J. Respiratory hydrogen excretion as a parameter for lactose malabsorption in children. *Am.J.Clin.Nutr.*, **31**: 597-602, 1978.
32. FLATZ, G. Genetics of lactose digestion in humans. *Adv.Hum. Genet.*, **77**: 1-77, 1987.
33. FORGET, P.; LOMBET, J.; GRANDFILS, C.; DANDRIFOSSE, G. & GEUBELLE, F. Lactase insufficiency revisited. *J.Ped.Gastroenterol.Nutr.*, **4**: 868-72, 1985.
34. GARZA, C. & SCRIMSHAW, N.S. Relationship of lactose intolerance to milk intolerance in young children. *Am.J.Clin.Nutr.*, **29**: 192-6, 1976.
35. GEARHART, H.L.; BOSE, D.P.; SMITH, C.A. & MORRISON, R.D. Determination of lactose malabsorption by breath analysis with gas chromatography. *Anal.Chem.*, **48**: 393-8, 1976.
36. GRAY, G.M. Congenital and adult intestinal lactase deficiency. *New Engl.J.Med.*, **294**: 1057-8, 1976.

37. GRODZKA, Z.; ZBIEG-SENDECKA, E.; HAGEL-LEWICKA, E.; BOROWSKA, B.; DAWYDZIK, B. & SOSNOWSKI, J. Correlation between the results of oral loading tests (with xylose, lactose, saccharose) and the morphological status and enzymatic activity of small intestine mucosa in children with the malabsorption syndrome. *Materia Medica Polona*, 2: 83-7, 1986.
38. GUDMAND-HOYER, E. & SIMONY, K. Individual sensitivity to lactose in lactose malabsorption. *Dig.Dis.*, 22: 177-81, 1977.
39. HARPER, H.A.; RODWELL, V.W. & MAYES, P.A. *Manual de química fisiológica*, 5<sup>a</sup>.ed., São Paulo, Atheneu, 1982.
40. HARRISON, M. & WALKER-SMITH, J.A. Reinvestigation of lactose intolerant children: lack of correlation between continuing lactose intolerance and small intestinal morphology, disaccharidase activity, and lactose tolerance tests. *Gut*, 18: 48-52, 1977.
41. HAVERBERG, L.; KWON, P.H. & SCRIMSHAW, N.S. Comparative tolerance of adolescents of differing ethnic backgrounds to lactose-containing and lactose-free dairy drinks. I. Initial experience with a double-blind procedure. *Am.J.Clin.Nutr.*, 33: 17-21, 1980.



42. HOLZEL, A.; SCHWARZ, V. & SUTCLIFFE, K.W. Defective lactose absorption causing malnutrition in infancy. *Lancet*, **1**: 1126-8, 1959.
43. HOUTS, S.S. Lactose intolerance. *Food Technology*, mar: 110-3, 1988.
44. JOHNSON, J.D.; SIMOONS, F.J.; HURWITZ, R.; GRANGE, A.; SINATRA, F.R.; SUNSHINE, P.; ROBERTSON, W.V.; BENNETT, P.H. & KRETCHMER, N. Lactose malabsorption among adult Indians of the Great Basin and American Southwest. *Am.J.Clin.Nutr.*, **31**: 381-7, 1978.
45. JONES, D.V.; LATHAM, M.C.; KOSIKOWSKI, F.V. & WOODWARD, G. Symptom response to lactose reduced milk in lactose-intolerant adults. *Am.J.Clin.Nutr.*, **29**: 633-8, 1976.
46. KAR, P. & TANDON, R.K. Lactose intolerance in Nagaland. *Indian J. Med. Res.*, **82**: 254-6, 1985.
47. KILARA, A. & SHAHANI, K.M. Lactase activity of cultured and acidified dairy products. *J.Dairy Sci.*, **59**: 2031-35, 1976.
48. KLIEGMAN, R.M. & SPARKS, J.W. Perinatal galactose metabolism. *J.Pediatr.*, **107**: 831-41, 1985.
49. KRASILNIKOFF, P.A.; GUDMAN-HOYER, E. & MOLTKE, H.H. Diagnostic value of disaccharide tolerance tests in children. *Acta Paediatr.Scand.*, **64**: 693-8, 1975.

50. KWON, P.H.; RORICK, M.H. & SCRIMSHAW, N.S. Comparative tolerance of adolescents of differing ethnic backgrounds to lactose-containing and lactose-free dairy drinks. II.Improvement of a double-blind test. *Am.J.Clin.Nutr.*, **33**: 22-6, 1980.
51. LEVITT, M.D. Production and excretion of hydrogen gas in man. *New Engl.J.Med.*, **281**: 122-7, 1969.
52. LEVITT, M.D. & BOND, J.H. Volume, composition, and source of intestinal gas. *Gastroenterology*, **59**: 921-9, 1970.
53. LEVITT, M.D. & DONALDSON, R.M. Use of respiratory hydrogen (H<sub>2</sub>) excretion to detect carbohydrate malabsorption. *J.Lab.Clin.Med.*, **75**: 937-45, 1970.
54. LIFSCHITZ, C.H.; BAUTISTA, A.; GOPALAKRISHNA, G.S.; STUFF, J. & GARZA, C. Absorption and tolerance lactose in infants recovering from severe diarrhea. *J.Pediatr.Gastroenterol.Nutr.*, **4**: 942-8, 1985.
55. LITTMAN, A. Lactase deficiency diagnosis and managements. *Hospital Practice*, **30**: 111-24, 1987.
56. MacADAM, A.M.; POLEY, J.R.; BHATIA, M. & WELSH, J.D. Oral lactose (LTT) and sucrose (STT) tolerance tests, intestinal disaccharidases (DD) and histology in children with chronic diarrhea comparison of results. *Gastroenterology*, **A-81**: 735, 1974.
57. MACLEAN, W.C. & FINK, B.B. Lactose malabsorption by premature infants: magnitude and clinical significance. *J.Pediatr.*, **97**: 383-8, 1980.

58. MAFFEI, H.V.L.; DAHER, S.R. & MOREIRA, F.L. Carbohydrate malabsorption in infants with diarrhea: diagnostic and evolutive aspects. *Arq.Gastroent.*, **21**: 136-42, 1984.
59. MAFFEI, H.V.L.; METZ, G.L. & JENKINS, D.J.A. Hydrogen breath test: adaptation of a simple technique to infants and children. *Lancet*, **1**: 1110-1, 1976.
60. MAGGI, R.; SAYAGUES, B.; FERNANDEZ, A.; ROMERO, B.; BARUSSO, P.; HERNANDEZ, C.; MAGARINOS, M.; MENDEZ, G.; DILASCIO, C. & MARTELL, M. Lactose malabsorption and intolerance in Uruguayan population by breath hydrogen test ( $H_2$ ). *J.Pediatr.Gastroenterol.Nutr.*, **6**: 373-6, 1987.
61. MARTINI, M.C.; BOLLWEG, G.L. LEVITT, M.D. & SAVAIANO, D.A. Lactose digestion by yogurt beta-galactosidase: influence of pH and microbial cell integrity. *Am.J.Clin.Nutr.*, **45**: 432-6, 1987a.
62. MARTINI, M.C.; SMITH, D.E. & SAVAIANO, D.A. Lactose digestion from flavored and frozen yogurts, ice milk, and ice cream by lactase-deficient persons. *Am.J.Clin.Nutr.*, **46**: 636-40, 1987b.
63. McDONOUGH, F.E.; HITCHINS, A.D.; WONG, N.P.; WELLS, P. & BODWELL, C.E. Modification of sweet acidophilus milk to improve utilization by lactose-intolerant persons. *Am.J.Clin.Nutr.*, **45**: 570-4, 1987.

64. MCGILL, D.B. & NEWCOMER, A.D. Comparison of venous and capillary blood samples in lactose tolerance testing. *Gastroenterology*, **53**: 371-4, 1967.
65. METZ, G.; JENKINS, D.J.A.; NEWMAN, A. & BLENDIS, L.M. Breath hydrogen in hyposucrasia. *Lancet*, **1**: 119-20, 1976.
66. METZ, G.; JENKINS, D.J.A.; PETERS, T.J.; NEWMAN, A. & BLENDIS, L.M. Breath hydrogen as a diagnostic method for hypolactasia. *Lancet*, **1**: 1155-7, 1975.
67. MITCHELL, K.J.; BAYLESS, T.M.; PAIGE, D.M.; GOODGAME, R.W. & HUANG, S.S. Intolerance of eight ounces of milk in healthy lactose-intolerant teen-agers. *Pediatrics*, **56**: 718-21, 1975.
68. MOORSEL, J.M.K.; DOUWES, A.C. & OEVEREN, J.P. New principle for estimation of hydrogen in expired air. *Eur.J.Pediatr.*, **14**: 221-4, 1984.
69. MORAES, M.A.C. *Métodos para avaliação sensorial dos alimentos*, 6<sup>a</sup>. ed., Campinas, UNICAMP, 1988.
70. NEWCOMER, A.D. Milk, lactase and gene distribution. *Dig.Dis*, **23**: 961-2, 1978.
71. NEWCOMER, A.D. & MCGILL, D.B. Clinical importance of lactase deficiency. *New Engl.J.Med.*, **310**: 42-3, 1984.
72. NEWCOMER, A.D. & MCGILL, D.B. Disaccharidase activity in the small intestine prevalence of lactase deficiency in 100 healthy subjects. *Gastroenterology*, **53**: 881-9, 1967.

73. NEWCOMER, A.D. & MCGILL, D.B. Distribution of disaccharidase activity in the small bowel of normal and lactase-deficient subjects. *Gastroenterology*, **51**: 481-8, 1966.
74. NEWCOMER, A.D.; MCGILL, D.B.; THOMAS, P.J. & HOFMANN, A.F. Prospective comparison of indirect methods for detecting lactase deficiency. *New Engl.J.Med.*, **293**: 1232-6, 1975.
75. NEWCOMER, A.D.; THOMAS, P.J.; MCGILL, D.B. & HOFMANN, A.F. Comparison of methods to detect lactase deficiency. *Gastroenterology*, **66**: 754, 1974.
76. NÓBREGA, F.J. & YIN, L. Estudo da absorção e tolerância à lactose em população adulta de bom nível sócio-econômico, realizado na cidade de São Paulo. *Rev.Bras.Clin.Terap.*, **13**: 327-30, 1984.
77. OROZCO-DURAN, G.A. *Prova de H<sub>2</sub> do ar pulmonar expirado (PH<sub>2</sub> APE) após ingestão de lactulose ou lactose, em seres humanos*, São Paulo, USP, 1987 [dissertação de mestrado].
78. PAIGE, D.M.; MELLITS, E.D.; CHIU, F.Y.; DAVIS, L.; BAYLESS, T.M. & CORDANO, A. Blood glucose rise after lactose tolerance testing in infants. *Am.J.Clin.Nutr.*, **31**: 222-5, 1978.
79. PASTORE, G.M. *Produção, purificação, estudos das propriedades e aplicação de beta-galactosidase de Scopulariopsis sp*, Campinas, FEA-UNICAMP, 1981. [tese de mestrado]

80. PETERNEL, W.W. Lactose tolerance in relation to intestinal lactase activity. *Gastroenterology*, **48**: 299-306, 1965.
81. QUAK, S.H.; RAMAN, G.V.; LOW, P.S. & WONG, H.B. Lactase insufficiency in chinese children detected by oral milk and lactose challenge. *Ann.Trop.Paediat.*, **7**: 100-3, 1987.
82. RAO, D.R.; PULUSANI, S.R. & CHAWAN, C.B. Role of fermented milk products in milk intolerance and other clinical conditions. *Adv.Nutr.Res.*, **7**: 203-19, 1985.
83. ROGGERO, P.; MOSCA, F.; MOTTA, G.; MANGIATERRA, V.; PERAZZANI, M. OFFREDI, M.L.; MARIANI, A. & CAREDDU, P. Sugar absorption in healthy preterm and full-term infants. *J.Ped.Gastroenterol.Nutr.*, **5**: 214-9, 1986.
84. ROSADO, J.L. Análisis de hidrógeno espirado como índice de absorción de carbohidratos. *Rev.Invest.Clin.*, **37**: 261-70, 1985.
85. ROSADO, J.L.; ALLEN, L.H. & SOLOMONS, N.W. Milk consumption, symptom response, and lactose digestion in milk intolerance. *Am.J.Clin.Nutr.*, **45**: 1457-60, 1987.
86. ROSADO, J.L. & SOLOMONS, N.W. Sensitivity and specificity of the hydrogen breath-analysis test for detecting malabsorption of physiological doses of lactose. *Clin.Chem.*, **29**: 545-8, 1983.

87. ROSADO, J.L.; SOLOMONS, N.W.; LISKER, R. & BOURGES, H. Enzyme replacement therapy for primary adult lactase deficiency. *Gastroenterology*, 87: 1072-82, 1984.
88. ROSADO, L.E.F.P.L. *Avaliação da absorção e tolerância à lactose em escolares do primeiro grau do Município do Embu - São Paulo*, São Paulo, USP, 1986 [dissertação de mestrado].
89. SALOMON, J.B.; DOREA, J.G & GARRONE JÚNIOR, D. O extrato hidrossolúvel de soja integral na alimentação infantil. In: MIYASAKA, S. & MEDINA, J.C. *A soja no Brasil*, Campinas, ITAL, 1981. p.890-900.
90. SANDINE, W.E. & DALY, M. Milk intolerance. *J.Food Protection*, 42: 435-7, 1979.
91. SAVAIANO, D.A. & LEVITT, M.D. Milk intolerance and microbe-containing dairy foods. *J.Dairy Sci.*, 70: 397-406, 1987.
92. SEVA-PEREIRA, A. *Malabsorção de lactose do adulto em uma população brasileira*, Campinas, UNICAMP, 1981 [tese de doutorado].
93. SGARBIERI, V.C. *Alimentação e nutrição*, São Paulo, Almed, 1987.
94. SILVESTRINI, W. *Avaliação da tolerância e absorção de lactose em escolares do primeiro grau do Município de São Paulo*, São Paulo, USP, 1983 [tese de doutorado].
95. SIMOONS, F.J. Primary adult lactose intolerance and the milking habit: a problem in biological and cultural interrelations. *Am.J.Dig.Dis.*, 14: 819-36, 1969.

96. SIMOONS, F.J. The geographic hypothesis and lactose malabsorption. *Dig.Dis.*, **23**: 963-80, 1978.
97. SOLOMONS, N.W. & BARILLAS, C. The cut-off criterion for a positive hydrogen breath test in children: a reappraisal. *J.Pediatr. Gastroenterol.Nutr.*, **5**: 920-5, 1986.
98. SOLOMONS, N.W.; GARCIA-IBANEZ, R. & VITERI, F.E. Hydrogen breath test of lactose absorption in adults: the application of physiological doses and whole cow's milk sources. *Am.J.Clin.Nutr.*, **33**: 545-54, 1980.
99. SOLOMONS, N.W.; TORUN, B.; CABALLERO, B.; FLORES-HUERTA, S. & OROZCO, G. The effect of dietary lactose on the early recovery from protein-energy malnutrition. I. Clinical and anthropometric indices. *Am.J.Clin.Nutr.*, **40**: 591-600, 1984.
100. SOLOMONS, N.W. & VITERI, F.E. Development of an interval sampling hydrogen ( $H_2$ ) breath test for carbohydrate malabsorption in children: evidence for a circadian pattern of breath  $H_2$  concentration. *Pediatr.Res.*, **12**: 816-23, 1978.
101. SOLOMONS, N.W.; VITERI, F.E. & HAMILTON, L.H. Application of a simple gas chromatographic technique for measuring breath hydrogen. *J.Lab.Clin.Med.*, **90**: 856-62, 1977.



102. STEPHENSON, L.S. & LATHAM, M.C. Lactose intolerance and milk consumption: the relation of tolerance to symptoms. *Am.J.Clin.Nutr.*, 27: 296-303, 1974.
103. TADESSE, K.; SMITH, D. & EASTWOD, M.A. Breath hydrogen ( $H_2$ ) and methane ( $CH_4$ ) excretion patterns in normal man and in clinical practice. *Quarterly J.Exp.Phys.*, 65: 85-97, 1980.
104. TADESSE, K. & WONG, B. Is it time to change the standard lactose tolerance test? *Proc.Nutr.Soc.*, 45: 47<sup>a</sup>, 1985.
105. THE ROYAL COLLEGE OF PHYSICIANS & THE BRITISH NUTRITION FOUNDATION. Intolerance and food aversion. *J.R.Coll.Physicians Lond.*, 18: 3-41, 1984.
106. TING, C.W.; HWANG, B. & WU, T.C. Developmental changes of lactose malabsorption in normal chinese children: a study using breath hydrogen test with a physiological dose of lactose. *J.Pediatr.Gastroenterol.Nutr.*, 7: 848-51, 1988.
107. TOLBOOM, J.J.M.; RALITAPOLE-MARUPING, A.P.; MOTHEBE, M.; KABIR, H.; MOLATSELI, P. & FERNANDES, J. Carbohydrate malabsorption in children with severe protein energy malnutrition. *Trop.Geogr.Med.*, 36: 355-65, 1984.
108. TORUN, B.; SOLOMONS, N.W.; CABALLERO, B.; FLORES-HUERTA, S.; OROZCO, G. & PINEDA, O. The effect of dietary lactose on the early recovery from protein-energy malnutrition. II. Indices of nutrient absorption. *Am.J.Clin.Nutr.*, 40: 601-10, 1984.

- 109.TOWNLEY, R.R.W.; KHAW, K.T.& SHWACHMAN, H. Quantitative assay of disaccharidase activities of small intestinal mucosal biopsy specimens in infancy and childhood. *Pediatrics*, **36**: 911-21, 1965.
- 110.VILLIERS, F.P.R. A standardized milk tolerance test. *J.Clin.Gastroenterol*, **9**: 320-3, 1987.
- 111.WEAVER, L.T.; LAKER, M.F. & NELSON, R. Neonatal intestinal lactase activity. *Arch.Dis.Chil.*, **61**: 896-9, 1986.
- 112.WEBB, B.H.; JOHNSON, A.H. & ALFORD, J.A. *Fundamentals of dairy chemistry*, 2<sup>nd</sup>. Connecticut, Avi Publishing Co., 1978.
- 113.WEHA, J. *Avaliação da capacidade de absorção de lactose. Estudo em população de índios do Alto Xingu*, São Paulo, EPM, 1976 [tese de doutorado].
- 114.WELSH, J.D. Isolated lactase deficiency in humans: report on 100 patients. *Medicine*, **49**: 257-77, 1970.
- 115.WELSH, J.D. On the lactose tolerance test. *Gastroenterology*, **51**: 445-6, 1966.
- 116.WELSH, J.D.; PAYNE, D.L.; MANION, C.; MORRISON, R.D. & NICHOLS, M.A. Interval sampling of breath hydrogen (H<sub>2</sub>) as an index of lactose malabsorption in lactase deficient subjects. *Dig.Dis.Sci.*, **26**: 681-5, 1981.
- 117.WELSH, J.D. & ROHRER, V. Isolated lactase deficiency. *Arch.Intern.Med.*, **120**: 261-9, 1967.

118. WENDORFF, W.L.; AMUNDSON, C.H. & OLSON, N.F. Use of yeast beta-galactosidase in milk and milk products. *J. Milk Food Technol.*, **34**: 294-9, 1971.
119. ZHENG, J.J. & ROSENBERG, I.H. Lactose malabsorption in healthy chinese adults. *Ecology of Food and Nutrition*, **15**: 1-6, 1984.

ANEXO 1

Teste de Tolerância à Lactose

IDENTIFICAÇÃO

No

|            |     |              |             |
|------------|-----|--------------|-------------|
| Nome       |     | Descendência |             |
| Sexo       | M F | Nascimento   | ___/___/___ |
|            |     | Origem       |             |
|            |     | paterno      | materno     |
| Origem pai |     | Origem avô   |             |
| mãe        |     | avó          |             |
| Endereço   |     |              |             |
|            |     |              |             |
|            |     |              |             |

INGESTÃO DE LEITE

|                                                  |   |
|--------------------------------------------------|---|
| Consome 1 copo ou 1 xícara de leite?             |   |
| Nunca                                            | 0 |
| Com que idade deixou de consumir? _____          |   |
| Quanto consumia diariamente? 0 1 2 3 4 5         |   |
| 1 a 3 vezes/mes                                  | 1 |
| 1 a 3 vezes/semana                               | 2 |
| 3 a 6 vezes/semana                               | 3 |
| 2 vezes/dia                                      | 4 |
| + que 2 vezes/dia                                | 5 |
| Sente-se bem após a ingestão de leite? S N       |   |
| Consome bebidas lácteas fermentadas? 0 1 2 3 4 5 |   |
| Sente-se bem após ingeri-las? S N                |   |
| OBS.:                                            |   |

RESPOSTA GLICÊMICA E SINTOMÁTICA

|                   |        |             |             |        |        |        |
|-------------------|--------|-------------|-------------|--------|--------|--------|
| Doses             | 0      | 10          | 20          | 30     | 40     | 50     |
| GLICEMIA (mg%)    |        |             |             |        |        |        |
| Tempo (minutos)   | abs.#0 | abs.#0      | abs.#0      | abs.#0 | abs.#0 | abs.#0 |
| 0                 | 0      | 0           | 0           | 0      | 0      | 0      |
| .....             | .....  | .....       | .....       | .....  | .....  | .....  |
| 20                | .....  | .....       | .....       | .....  | .....  | .....  |
| .....             | .....  | .....       | .....       | .....  | .....  | .....  |
| 40                | .....  | .....       | .....       | .....  | .....  | .....  |
| .....             | .....  | .....       | .....       | .....  | .....  | .....  |
| pico máximo       | .....  | .....       | .....       | .....  | .....  | .....  |
| SINTOMAS          |        |             |             |        |        |        |
| Flatulência/gás.. | .....  | .....       | .....       | .....  | .....  | .....  |
| Dor abdominal.... | .....  | .....       | .....       | .....  | .....  | .....  |
| Diarréia          | .....  | .....       | .....       | .....  | .....  | .....  |
| .....             | .....  | .....       | .....       | .....  | .....  | .....  |
| TOTAL             | .....  | .....       | .....       | .....  | .....  | .....  |
|                   | + leve | ++ moderado | +++ intenso |        |        |        |

ANEXO 2

Teste de H<sub>2</sub> Pulmonar

|                |  |                    |  |
|----------------|--|--------------------|--|
| IDENTIFICAÇÃO  |  | Nº                 |  |
| Nome _____     |  |                    |  |
| Sexo    F    M |  | Idade _____ anos   |  |
| Origem _____   |  | Descendência _____ |  |

| CONSUMO LACTEO |           |            | NÃO CONSUMO LACTEO |        |
|----------------|-----------|------------|--------------------|--------|
| Produto        | Qtdd (ml) | Frequência | Desde (idade)      | Motivo |
| Leite          |           |            |                    |        |
| Iogurte        |           |            |                    |        |
| Queijo         |           |            |                    |        |

| CONSIDERAÇÕES PRELIMINARES |                   |                |
|----------------------------|-------------------|----------------|
| Teste                      | Leite hidrolisado | Leite integral |
| Data - hora                |                   |                |
|                            | Jantar da Véspera |                |
| horário                    |                   |                |
| cardápio                   |                   |                |

| H <sub>2</sub> PULMONAR |                         |          |                      |          |
|-------------------------|-------------------------|----------|----------------------|----------|
| Tempo (horas)           | Leite hidrolisado (ppm) | variação | Leite integral (ppm) | variação |
| 0                       |                         | 0        |                      | 0        |
| 0,5                     |                         |          |                      |          |
| 1                       |                         |          |                      |          |
| 1,5                     |                         |          |                      |          |
| 2                       |                         |          |                      |          |
| 2,5                     |                         |          |                      |          |
| 3,0                     |                         |          |                      |          |
| pico máximo             |                         |          |                      |          |

| SINTOMAS                |  |             |   |            |   |           |   |   |   |
|-------------------------|--|-------------|---|------------|---|-----------|---|---|---|
| Leite                   |  | hidrolisado |   |            |   | integral  |   |   |   |
| Intensidade             |  | 0           | 1 | 2          | 3 | 0         | 1 | 2 | 3 |
| Flatulência ou gases    |  |             |   |            |   |           |   |   |   |
| Cólica ou dor abdominal |  |             |   |            |   |           |   |   |   |
| Diarréia ou borborismo  |  |             |   |            |   |           |   |   |   |
| 0=ausente               |  | 1=leve      |   | 2=moderado |   | 3=intenso |   |   |   |

ANEXO 3

Teste de Escala Hedônica

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |  |                     |  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------------|--|
| Nome _____                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |  | Data ____/____/____ |  |
| <p>Avalie cada amostra usando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou.</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Desgostei MUITÍSSIMO</li><li>2. Desgostei Muito</li><li>3. Desgostei Regularmente</li><li>4. Desgostei Ligeiramente</li><li>5. Indiferente</li><li>6. Gostei Ligeiramente</li><li>7. Gostei Regularmente</li><li>8. Gostei Muito</li><li>9. Gostei MUITÍSSIMO</li></ol> |  |                     |  |
| <u>Número da Amostra</u>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |  | <u>Valor</u>        |  |
| _____                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |  | _____               |  |
| _____                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |  | _____               |  |
| Comentários _____                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |  |                     |  |
| _____                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |  |                     |  |
| _____                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |  |                     |  |

## ANEXO 4

## Teste de Preferência

Estamos fazendo uma pesquisa sobre a preferência do consumidor para este produto. Por favor, prove as duas amostras e indique sua preferência.

1. Prefiro a Amostra \_\_\_\_\_
2. Não tenho preferência \_\_\_\_\_

Por favor, dê a razão de sua preferência:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Frequência do consumo do produto objeto do teste:

- Tomo frequentemente \_\_\_\_\_
- Tomo ocasionalmente \_\_\_\_\_
- Nunca tomo \_\_\_\_\_

Comentários: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_