

Análisis de lactosa: Evolución de los métodos enzimáticos y optimización del rendimiento analítico en matrices complejas y sin lactosa.

Dra. Simone Pucci - Jefa del Laboratorio Químico CDR "Francesco Bonicolini"

P2621

Resumen

El objetivo de este artículo es demostrar cómo CDR FoodLab® representa una evolución práctica de los métodos enzimáticos UV tradicionales para el análisis de lactosa, superando algunas de sus limitaciones operativas relacionadas con la preparación de muestras, la gestión de reactivos, los tiempos de respuesta y la susceptibilidad a interferencias. El método no se presenta como un sustituto absoluto de la HPLC en contextos de validación oficiales, sino como un sistema rápido con una fiabilidad comparable a la de la cromatografía de referencia para el control operativo del proceso sin lactosa.

1. Introducción: El escenario analítico y la relevancia estratégica del control de la lactosa.

Determinar la lactosa en productos "sin lactosa" representa uno de los desafíos analíticos más complejos para la industria láctea actual. En un mercado donde la pureza del producto es un requisito indispensable, la gestión de la integridad de la calidad debe abordar un aspecto técnico crucial: eliminar el riesgo de falsos negativos en la certificación de lactosa residual. La intolerancia a la lactosa, vinculada a una deficiencia de la enzima lactasa, exige a los fabricantes garantizar concentraciones extremadamente bajas, lo que convierte la incertidumbre analítica en un factor de riesgo económico y legal.

Al **controlar la lactosa residual**, el método analítico empleado determina no solo el resultado de laboratorio, sino también la capacidad del fabricante para supervisar el proceso con datos fiables que puedan utilizarse para la toma de decisiones operativas. La disponibilidad rápida de datos fiables es esencial para validar los procesos de deslactosación, optimizar el uso de enzimas industriales y evitar retrasos en la producción. Por lo tanto, comprender el principio químico subyacente a la medición se convierte en un requisito fundamental para interpretar correctamente los datos y garantizar la inocuidad alimentaria.

2. Comparación de principios químicos: reactividad y especificidad de la señal.

La determinación enzimática de la lactosa puede llevarse a cabo utilizando diferentes métodos, que difieren en el principio de reacción, el sistema de

detección y el manejo de posibles interferencias de la matriz.

- **Método UV tradicional:** Utiliza una reacción en dos etapas. La lactosa se hidroliza mediante β -galactosidasa en D-glucosa y D-galactosa. Esta última se oxida a ácido D-galactónico mediante β -galactosa deshidrogenasa (β -Gal-DH) en presencia de NAD^+ . La señal se genera por la producción de NADH y se mide a 340 nm. Este método suele requerir un cálculo diferencial para determinar la cantidad real de lactosa.
- **Sistema CDR FoodLab®:** Manteniendo la etapa inicial de hidrólisis, la glucosa residual genera la señal analítica. Mediante una reacción catalizada por peroxidasa, la glucosa reacciona con un compuesto fenólico para formar un complejo de quinonimina de color rosa. La absorbancia se mide a 505 nm.

Parámetro	Método tradicional (UV)	Sistema CDR FoodLab®
Principio de reacción	Oxidación de D-galactosa (NADH)	Reacción cromogénica de la glucosa
Longitud de onda	340 nm (UV)	505 nm (Visible)
Preparación de muestras	Clarificación (Carrez) o Desproteínización	Dilución simple
Puntos de dosificación	4 reactivos separados + agua bidestilada	Reactivo precargado + adición de R1a y R2
Tiempo de análisis	> 60 minutos (30+30 minutos de incubación)	10 minutos

Tabla 1: Comparación del método enzimático tradicional frente a CDR FoodLab®

3. Más allá del método enzimático: El papel de la HPLC

Para completar el panorama de las técnicas analíticas utilizadas en el control de la lactosa, también es apropiado considerar la HPLC (cromatografía líquida de alta resolución), un método descrito por la norma ISO 22662 para la determinación de la lactosa mediante separación cromatográfica.

La HPLC permite la separación y cuantificación de azúcares individuales, lo que la convierte en una técnica de referencia cuando se requiere una caracterización analítica exhaustiva del perfil de carbohidratos. Sin embargo, su uso exige condiciones de operación más estructuradas que los métodos enzimáticos convencionales.

En particular, el análisis cromatográfico implica:

- **habilidades técnicas específicas** para el manejo de instrumentos, la preparación de fases móviles, el control de columnas y la interpretación de cromatogramas.
- **Tiempos de análisis más prolongados**, relacionados con la preparación del sistema, el acondicionamiento de la columna y la secuencia cromatográfica.
- **Mayores costes operativos**, asociados al uso de disolventes de pureza HPLC, columnas cromatográficas, mantenimiento de instrumentos y gestión de residuos.

En este contexto, si bien la HPLC mantiene un papel central en los análisis finales de cumplimiento y validación, un sistema enzimático rápido puede funcionar en perfecta complementariedad para el monitoreo diario de la producción.

4. Optimización para la gama "sin lactosa" y robustez del método.

En la determinación de la lactosa residual, particularmente en el rango crítico de los productos sin lactosa (0,01 – 0,1 g/100 g), la precisión está estrechamente ligada al control de los efectos de la matriz.

Los métodos enzimáticos UV clásicos afirman tener un límite de detección (LD) teórico adecuado (aproximadamente 7 mg/L), pero esto a menudo requiere introducir un gran volumen de muestra en la cubeta (hasta 0,50 mL). Este requisito agrava los problemas de turbidez debidos a las proteínas y grasas en suspensión, lo que provoca inestabilidad en la lectura en el rango ultravioleta (340 nm) y exige pretratamientos complejos (como la clarificación).

El **sistema CDR FoodLab®** soluciona esta limitación transfiriendo las lecturas al rango visible a **505 nm**. Esta configuración reduce significativamente el impacto óptico de los residuos de proteínas y grasas, incluso en matrices sometidas a tratamientos térmicos ultraaltos (UHT). El sistema permite monitorizar todo el ciclo de deslactosación directamente en la planta, identificando rápidamente el momento en que la lactosa cae por debajo del umbral deseado (0,1 g/100 g). Este método basado en glucosa también reduce **el riesgo** de reactividad cruzada con L- arabinosa, una limitación presente en los sistemas UV que utilizan β -galactosa deshidrogenasa. La arabinosa, ausente en la leche pura, puede encontrarse en formulaciones como el yogur con fruta (debido a la degradación de la pectina), bebidas vegetales o matrices que contienen espesantes y fibras (como la goma arábica). Dado que la β -Gal-DH clásica también muestra afinidad por esta pentosa, los métodos tradicionales corren el riesgo de

sobreestimar la lactosa residual. Al modificar el objetivo analítico, el sistema CDR FoodLab® ^{minimiza} el impacto potencial de la arabinosa, promoviendo una mayor selectividad de datos incluso en formulaciones con múltiples ingredientes.

5. Eficiencia operativa y reducción del riesgo analítico

En el control de calidad de procesos, la eficiencia analítica está estrechamente ligada a la estandarización del flujo de trabajo y a la minimización de las variables manuales, factores que influyen directamente en la repetibilidad de los datos.

- **Problemas críticos del método tradicional:** La preparación de la muestra requiere el uso de reactivos de Carrez o ácido perclórico para la clarificación, procedimientos laboriosos que introducen variabilidad. La gestión de reactivos es compleja: la solución de NAD/citrato es estable solo durante **3 meses** después de su preparación, con el riesgo de utilizar reactivos parcialmente degradados. Además, el pipeteo manual de cuatro reactivos diferentes más agua redestilada aumenta significativamente el coeficiente de variación (CV%).
- **sistema CDR FoodLab® optimizado:**
 - **Flujo de trabajo simplificado:** La leche requiere una simple dilución de 1:10, mientras que los sólidos (queso/mantequilla) se procesan mediante una rápida extracción de 3 minutos en agua con un Stomacher y posterior filtración.
 - **Reactivos listos para usar y estabilidad:** A diferencia de los métodos tradicionales que requieren la preparación extemporánea de soluciones con una vida útil bastante corta, los reactivos CDR vienen preenvasados y listos para usar, con una fecha de caducidad de 12 meses.
 - **Respuesta en tiempo real:** Con un tiempo de análisis de tan solo 10 minutos (frente a los más de 60 minutos del método UV), el CDR FoodLab® permite realizar ajustes en la línea de producción, transformando el control de calidad de un cuello de botella a un factor clave en la agilidad de la producción.

6. Validación experimental: correlación con HPLC y aplicabilidad al control sin lactosa.

La solidez analítica del sistema CDR FoodLab® está respaldada por evidencia experimental que muestra una alta correlación con los métodos cromatográficos (HPLC), considerados históricamente el estándar de referencia para la cuantificación de azúcares.

La fiabilidad del método se confirmó mediante dos niveles de evaluación diferentes:

- **Validación de ACTALIA Cecalait**: realizada en leche sin lactosa, mostró una precisión excelente en comparación con HPLC ($R^2 = 0,9882$) con una baja desviación estándar de repetibilidad (0,017 g/100 g).
- **Verificación en condiciones rutinarias (Laboratorio IZS)**: un estudio comparativo de muestras comerciales, gestionadas por diferentes operadores con diferentes instrumentos, confirmó la robustez del sistema en condiciones reales, registrando una correlación igual a $R^2 = 0,9903$ en comparación con el método oficial de HPLC.

Estos datos confirman el posicionamiento de CDR FoodLab®: un instrumento diseñado no para sustituir la HPLC en laboratorios que cumplen plenamente con la normativa, sino para transferir directamente al control de procesos una determinación rápida y repetible que sea perfectamente coherente con los umbrales operativos del mercado de productos sin lactosa.

Evidencia	Fuente/ Contexto	Datos clave	Significado operante
Repetibilidad	ACTALIA	$S_r = 0,017$ g/100 g	Adecuado para control operante
Correlación con HPLC	ACTALIA	$R^2 = 0,9882$	Alta concordancia con la referencia cromatográfica
Error estándar	ACTALIA	$\pm 0,09$ g/100 g	Compatible con el umbral sin lactosa de 0,1 g/100 g.
Correlación IZS	Muestras comerciales	$R^2 = 0,9903$	Confirmación en muestras reales y en laboratorio externo.

7. Conclusiones

La evolución del mercado de productos *sin lactosa* requiere un control de calidad dinámico, capaz de integrarse en el flujo de producción sin ralentizarlo. Si bien la HPLC sigue siendo el referente para el cumplimiento legal y el método UV tradicional

adolesce de complejidad operativa y riesgo de sobreestimación (como en el caso de la L-arabinosa), el **sistema CDR FoodLab®** ofrece una combinación ideal de rigor científico y operaciones de planta.

- **Especificidad y control de interferencias**: La lectura a 505 nm y la cinética centrada en la glucosa protegen los datos de la turbidez, los residuos de proteínas y los falsos positivos causados por azúcares extraños en matrices complejas.
- **Velocidad del proceso**: El análisis en tan solo 10 minutos, combinado con una preparación mínima de la muestra, permite supervisar el progreso de la deslactosación en tiempo real para tomar decisiones rápidas en línea.
- **Robustez validada**: La alta correlación con el estándar HPLC ($R^2 > 0,9882$), certificada por organismos independientes como ACTALIA e IZS, garantiza la máxima fiabilidad de los datos incluso en condiciones rutinarias con múltiples operadores.

En resumen, la integración de CDR FoodLab® optimiza los flujos de trabajo del laboratorio y elimina los tiempos de espera, transformando el control de la lactosa residual de un posible cuello de botella en un factor estratégico para la eficiencia y la seguridad alimentaria.

Enlaces útiles

- [Validación del kit líquido combinado de lactosa/D-galactosa Enzytec™ para la determinación enzimática de lactosa y D-galactosa en alimentos seleccionados: Método oficial 2024.10. Primera acción.](#)
- [Validación analítica de un método avanzado de U-HPLC-MS/MS para la detección de lactosa en complementos alimenticios y productos farmacéuticos.](#)
- [Determinación de lactosa en leche y productos lácteos.](#)
- [Informe de evaluación del análisis de leche CDR FoodLab® - ACTALIA](#)
- [Estudio de correlación del análisis de lactosa con el método de referencia](#)