

## Analyse du lactose : évolution des méthodes enzymatiques et optimisation des performances analytiques dans les matrices complexes et délactosées

Dr Simone Pucci - Responsable du laboratoire de chimie du CDR « Francesco Bonicolini »

P2621

### Résumé:

Cet article vise à démontrer comment CDR FoodLab® représente une évolution pratique des méthodes enzymatiques UV traditionnelles pour l'analyse du lactose, en palliant certaines de leurs limitations opérationnelles liées à la préparation des échantillons, à la gestion des réactifs, aux temps de réponse et à la sensibilité aux interférences. La méthode n'est pas présentée comme un substitut absolu à la CLHP dans les contextes de validation officiels, mais comme un système rapide dont la fiabilité est comparable à celle de la méthode chromatographique de référence pour le contrôle opérationnel du procédé sans lactose.

### 1. Introduction : Scénario analytique et pertinence stratégique du contrôle du lactose

Le dosage du lactose dans les produits « sans lactose » représente aujourd'hui l'un des défis analytiques les plus complexes pour l'industrie laitière. Sur un marché où la pureté des produits est une condition essentielle, la gestion de l'intégrité de la qualité doit s'attaquer à un problème technique crucial : éliminer le risque de faux négatifs lors de la certification du lactose résiduel. L'intolérance au lactose, liée à un déficit en lactase, impose aux fabricants de garantir des concentrations extrêmement faibles, ce qui fait de l'incertitude analytique un facteur de risque économique et juridique.

Lors **du contrôle du lactose résiduel**, la méthode analytique employée détermine non seulement le résultat de laboratoire, mais aussi la capacité du fabricant à suivre le procédé grâce à des données fiables, exploitables pour la prise de décisions opérationnelles. La disponibilité rapide de données fiables est essentielle pour valider les procédés de délactosation, optimiser l'utilisation des enzymes industrielles et éviter les retards de production. La compréhension du principe chimique sous-jacent à la mesure constitue donc un prérequis fondamental pour interpréter correctement les données et garantir la sécurité alimentaire.

### 2. Comparaison des principes chimiques : réactivité et spécificité du signal

Le dosage enzymatique du lactose peut être réalisé selon différentes approches, qui diffèrent par le

principe de la réaction, le système de détection et la gestion des éventuelles interférences de la matrice.

- **Méthode UV traditionnelle:** Elle repose sur une réaction en deux étapes. Le lactose est hydrolysé par la  $\beta$ -galactosidase en D-glucose et D-galactose. Ce dernier est ensuite oxydé en acide D-galactonique par la  $\beta$ -galactose déshydrogénase ( $\beta$ -Gal-DH) en présence de  $\text{NAD}^+$ . Le signal, généré par la production de NADH, est mesuré à 340 nm. Cette méthode nécessite souvent un calcul différentiel pour déterminer la quantité de lactose.
- **Système CDR FoodLab®:** L'étape d'hydrolyse initiale est maintenue, et le signal analytique est généré par le glucose résiduel. Par une réaction catalysée par la peroxydase, le glucose réagit avec un composé phénolique pour former un complexe de quinonimine rose. L'absorbance est mesurée à 505 nm.

Paramètre	Méthode traditionnelle (UV)	Système CDR FoodLab®
Principe de réaction	Oxydation du D-galactose (NADH)	Réaction chromogène du glucose
Longueur d'onde	340 nm (UV)	505 nm (visible)
Préparation des échantillons	Clarification ( Carrez ) ou Déprotéinisation	Dilution simple
Points de dosage	4 réactifs distincts + eau redistillée	Réactif pré-rempli + ajout de R1a et R2
Temps d'analyse	> 60 minutes (30 + 30 min d'incubation)	10 minutes

Tableau 1: Comparaison de la méthode enzymatique traditionnelle et de la méthode CDR FoodLab®

### 3. Au-delà de la méthode enzymatique : le rôle de la CLHP

Pour compléter le tableau des techniques analytiques utilisées dans le contrôle du lactose, il convient également de considérer la CLHP, chromatographie liquide à haute performance, une méthode décrite par la norme ISO 22662 pour la détermination du lactose par séparation chromatographique.

La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) permet la séparation et la quantification des sucres individuels, ce qui en fait une méthode de choix lorsqu'une caractérisation analytique approfondie du profil glucidique est nécessaire. Cependant, son utilisation requiert des conditions

opératoires plus rigoureuses que les méthodes enzymatiques classiques.

L'analyse chromatographique implique notamment :

- **Compétences techniques spécifiques** requises pour la gestion des instruments, la préparation des phases mobiles, le contrôle des colonnes et l'interprétation des chromatogrammes.
- **Des temps d'analyse plus longs**, liés à la préparation du système, au conditionnement de la colonne et à la séquence chromatographique.
- **Des coûts d'exploitation plus élevés**, liés à l'utilisation de solvants de pureté HPLC, de colonnes chromatographiques, à l'entretien des instruments et à la gestion des déchets.

Dans ce contexte, alors que la CLHP conserve un rôle central dans les analyses finales de conformité et de validation, un système enzymatique rapide peut fonctionner en parfaite complémentarité pour le suivi quotidien de la production.

#### 4. Optimisation pour la gamme « sans lactose » et robustesse de la méthode

Dans la détermination du lactose résiduel, en particulier dans la plage critique des produits sans lactose (0,01 – 0,1 g/100 g), la précision est étroitement liée à la gestion des effets de matrice. Les méthodes enzymatiques UV classiques affichent une limite de détection théorique (LOD) satisfaisante (environ 7 mg/L), mais nécessitent souvent l'introduction d'un volume important d'échantillon dans la cuvette (jusqu'à 0,50 mL). Cette exigence amplifie les problèmes de turbidité dus aux protéines et aux lipides en suspension, rendant la mesure instable dans le domaine ultraviolet (340 nm) et imposant des prétraitements complexes (tels qu'une clarification).

Le **système CDR FoodLab®** pallie cette limitation en effectuant les mesures dans le domaine visible à **505 nm**. Cette configuration réduit considérablement l'impact optique des résidus de protéines et de matières grasses, même dans les matrices soumises à des traitements thermiques à ultra-haute température (UHT). Le système permet de suivre l'intégralité du cycle de délictosation directement sur le site de production, et de détecter instantanément le moment où la teneur en lactose descend en dessous du seuil souhaité (0,1 g/100 g). Cette approche à base de glucose atténuée également le risque de réactions croisées avec la L- arabinose, une limitation présente dans les systèmes UV utilisant la  $\beta$ -galactose déshydrogénase.

L'arabinose, absente du lait pur, se retrouve dans des préparations telles que les yaourts aux fruits (en raison de la dégradation de la pectine), les boissons végétales ou les matrices contenant des

épaississants et des fibres (comme la gomme arabique). La  $\beta$ -Gal-DH classique présentant également une affinité pour ce pentose, les méthodes traditionnelles risquent de surestimer la teneur en lactose résiduel. En modifiant la cible analytique, le système CDR FoodLab® minimise l'impact potentiel de l'arabinose, améliorant ainsi la sélectivité des données, même dans les formulations multi-ingrédients.

#### 5. Réduction de l'efficacité opérationnelle et des risques analytiques

Dans le contrôle qualité des processus, l'efficacité analytique est étroitement liée à la standardisation des flux de travail et à la minimisation des variables manuelles, facteurs qui ont un impact direct sur la répétabilité des données.

- **Problèmes critiques liés à la méthode traditionnelle** : La préparation des échantillons nécessite l'utilisation de réactifs de Carrez ou d'acide perchlorique pour la clarification, des procédures laborieuses qui introduisent une variabilité. La gestion des réactifs est complexe : la solution de NAD/citrate n'est stable que pendant **3 mois** après sa préparation, avec le risque d'utiliser des réactifs partiellement dégradés. De plus, le pipetage manuel de quatre réactifs différents et d'eau redistillée augmente considérablement le coefficient de variation (CV%).
- **Système optimisé CDR FoodLab®** :
  - **Flux de travail simplifié** : le lait nécessite une simple dilution de 1:10, tandis que les solides (fromage/beurre) sont traités par une extraction rapide de 3 minutes dans l'eau via un Stomacher et une filtration ultérieure.
  - **Réactifs prêts à l'emploi et stabilité** : Contrairement aux méthodes traditionnelles qui nécessitent la préparation extemporanée de solutions à durée de conservation relativement courte, les réactifs CDR sont pré-conditionnés et prêts à l'emploi, avec une date de péremption de 12 mois.
  - **Réponse en temps réel** : Avec un temps d'analyse de seulement 10 minutes (contre plus de 60 minutes avec la méthode UV), le CDR FoodLab® permet des ajustements de ligne pendant la production, transformant le contrôle qualité d'un goulot d'étranglement en un facteur d'agilité de production.

## 6. Validation expérimentale : corrélation avec la CLHP et applicabilité au contrôle sans lactose

La robustesse analytique du système CDR FoodLab® est étayée par des preuves expérimentales montrant une forte corrélation avec les méthodes chromatographiques (CLHP), historiquement considérées comme la norme de référence pour la quantification des sucres.

La fiabilité de la méthode a été confirmée par deux niveaux d'évaluation différents :

- **Validation d'ACTALIA Cecalait** : réalisée sur du lait sans lactose, a montré une excellente précision par rapport à la CLHP ( $R^2 = 0,9882$ ) avec un faible écart type de répétabilité (0,017 g/100 g).
- **Vérification en conditions de routine (laboratoire IZS)** : une étude comparative sur des échantillons commerciaux, gérés par différents opérateurs avec différents instruments, a confirmé la robustesse du système sur le terrain, enregistrant une corrélation égale à  $R^2 = 0,9903$  par rapport à la méthode CLHP officielle.

Ces données confirment le positionnement du CDR FoodLab® : un instrument conçu non pas pour remplacer la CLHP dans les laboratoires entièrement conformes, mais pour transférer directement dans le contrôle des processus une détermination rapide et reproductible parfaitement cohérente avec les seuils de fonctionnement du marché sans lactose.

Preuve	Source/ Contexte	Données clés	Signification exploitation
Répétabilité	ACTALIE	$S_r = 0,017$ g/100 g	Adapté au contrôle exploitation
Corrélation avec la CLHP	ACTALIE	$R^2 = 0,9882$	Alignement élevé avec la référence chromatographique
Erreur standard	ACTALIE	$\pm 0,09$ g/100 g	Compatible avec un seuil de tolérance au lactose de 0,1 g/100 g
Corrélation IZS	Échantillons commerciaux	$R^2 = 0,9903$	Confirmation sur des échantillons réels et en laboratoire externe

## 7. Conclusions

L'évolution du marché des produits *sans lactose* exige un contrôle qualité dynamique, capable de

s'intégrer au flux de production sans le ralentir. Si la CLHP demeure la référence en matière de conformité légale et que la méthode UV traditionnelle souffre d'une complexité opérationnelle et d'un risque de surestimation (comme dans le cas de la L- arabinose), le **système CDR FoodLab®** offre une combinaison idéale de rigueur scientifique et d'efficacité opérationnelle.

- **Spécificité et contrôle des interférences:** La lecture à 505 nm et la cinétique axée sur le glucose protègent les données de la turbidité, des résidus de protéines et des faux positifs causés par des sucres étrangers dans des matrices complexes.
- **Rapidité du processus:** L'analyse en seulement 10 minutes, associée à une préparation minimale de l'échantillon, vous permet de suivre en temps réel la progression de la délactosation pour des décisions rapides en ligne.
- **Robustesse validée:** La forte corrélation avec la norme CLHP ( $R^2 > 0,9882$ ), certifiée par des organismes indépendants tels que ACTALIA et IZS, garantit une fiabilité maximale des données même dans des conditions de routine multi-opérateurs.

En résumé, l'intégration de CDR FoodLab® optimise les flux de laboratoire et élimine les temps d'attente, transformant le contrôle du lactose résiduel d'un goulot d'étranglement potentiel en un facteur stratégique d'efficacité et de sécurité alimentaire.

## Liens utiles

- [Validation de la méthode Enzytec™ Liquide Combi Lactose/D-Galactose pour le dosage enzymatique du lactose et du D-galactose dans certains aliments : Méthode officielle 2024.10 Première action](#)
- [Validation analytique d'une méthode U-HPLC-MS/MS avancée pour la détection du lactose dans les compléments alimentaires et les produits pharmaceutiques](#)
- [Dosage du lactose dans le lait et les produits laitiers](#)
- [Rapport d'évaluation de l'analyse du lait CDR FoodLab® - ACTALIA](#)
- [Étude de corrélation de l'analyse du lactose avec une méthode de référence](#)
- [Les analyses du lait et des produits laitiers avec CDR FoodLab®](#)