

# L'HYDROLYSE ENZYMATIQUE DU LACTOSE DANS UN FROMAGE CREME AU CHOCOLAT

Dorina GHEORGHITA

Université Technique de Moldavie

**Résumé:** Cette recherche a pour but d'évaluer l'influence de la concentration de l'enzyme, de la température et du temps de réaction dans le processus d'hydrolyse du lactose dans un fromage crème au chocolat. Le lactose a été hydrolysé par voie chimique en utilisant l'enzyme lactase. Toutefois, par le temps de la réaction enzymatique et les conditions de concentration évaluées, 100% de lactose hydrolysé n'a pas été atteint, mais ont été enregistrés des valeurs admissibles entre 0,15 à 0,01 % du lactose dans le produit fini. Les paramètres étudiés dans l'hydrolyse enzymatique du lactose sont essentiels pour permettre l'application de lactase dans les produits laitiers complexes et pour l'adaptation du profil compositionnel du produit aux consommateurs intolérants.

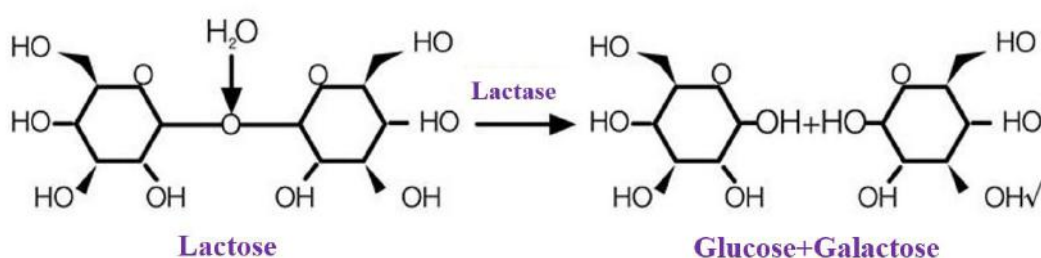
**Mots clés:** hydrolyse, lactose, lactase, fromage, intolérance, D-glucose, D-galactose.

## Introduction

Le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose, est le constituant le plus abondant après l'eau (46-49 g/l). L'absorption du lactose par les humains dépend de la présence de lactase ( $\beta$ -galactosidase) (enzyme présente dans le suc gastrique). Les corps de certaines personnes ne font pas assez de lactase, de sorte qu'ils ne sont pas en mesure de bien digérer le lait. Ces personnes ont un déficit en lactase et sont appelés "intolérants au lactose." Le problème de l'intolérance au lactose est bien connue et répandue dans plus de la moitié de la population mondiale [2]. Un large variété des produits sans lactose ont été développés et sont maintenant disponibles sur le marché. À cet égard, l'une des technologies utilisées pour produire des fromages crème dé lactosés est la méthode enzymatique.

Au cours des dernières années, l'intérêt de l'industrie laitière pour l'hydrolyse enzymatique de lactose a augmenté progressivement dans le monde entier à la suite de nouvelles connaissances indiquant le degré de malabsorption du lactose. L'hydrolyse du lactose dans les produits laitiers permet le développement de nouveaux marchés notamment en ce qui concerne l'alimentation des populations intolérantes au lactose (ce qui correspond à 75 % de la population mondiale) [1].

L'hydrolyse du lactose réalisé par voie enzymatique s'effectue sous l'action de l'enzyme - lactase. C'est une enzyme digestive, complexe, qui est sécrété par les glandes digestives, qui transfèrent leur contenu dans le tube digestif, c'agit d'une digestion extracellulaire. La fonction de l'enzyme lactase ( $\beta$ -galactosidase) est de catalyser l'hydrolyse du lactose en ses monosaccharides constitutifs (glucose et galactose)[6].



**Fig. 1:** L'hydrolyse du lactose en galactose et du glucose, catalysée la lactase

En bref, l'enzyme est utilisée dans l'industrie laitière pour produire des produits laitiers sans lactose, qui est une approche appropriée pour résoudre le problème de l'intolérance au lactose qui affecte l'homme dans le monde entier [3].

Les paramètres de la réaction, la température, acidité, temps de traitement, concentration en enzyme et en lactose détermine la vitesse de la réaction. Dans les solutions avec une haute teneur du lactose se produire la transgalactosylation, réaction qui peut former différents disaccharides et trisaccharides à partir de produits finaux de l'hydrolyse (glucose et galactose). Dans les solutions qui contiennent le lactose de 25 à 30%, peuvent se former jusqu'à 8% de disaccharides et trisaccharides - 5%, alors qu'une hydrolyse prolongée peut diviser ces produits plus tard.

Les métaux lourds tels que le zinc ( $> 5 \times 10^{-4}$  M) et le cuivre ( $> 5 \times 10^{-4}$  M) ont un fort effet inhibiteur sur l'enzyme. Le calcium ionique ou libre dans des concentrations plus élevées ( $> 10^{-4}$  M) inhibe également l'enzyme. En revanche, l'activité de la lactase et/ou la stabilité est améliorée par la présence du magnésium ( $10^{-4}$  M), manganèse ( $10^{-4}$  M) et potassium ( $10^{-4}$  M). Les concentrations de phosphate jusqu'à  $10^{-2}$  M influencent positivement la stabilité, par la fixation du calcium.

## **1. Matériels et méthodes**

### **1.1. La préparation de la base laitière**

Les essais ont été effectués sur un fromage de type mascarpone avec du chocolat blanc qui se fabrique sous la marque Chocobo, par Innolact. Les échantillons du lait pasteurisé utilisés sont de l'entreprise Innolact, s'agit d'une pasteurisation haute, le lait est soumis à des températures élevées, de 85 à 90 °C pendant 1-2 secondes. Les mesures d'hygiène ont été respectées, afin d'éviter aucun risque de contamination.

Pour chaque échantillon de fromage crème, le lait était standardisé avec de la crème fraîche, pour satisfaire le gras/extrait sec total. La crème est obtenue à partir d'un processus de centrifugation dans le séparateur, avec un contenu de 40 % de matière grasse.

Pour améliorer positivement la qualité du lait pour le fromage à la crème et la concentration en protéines, on ajoute poudre de protéine du lait de 60%, obtenu par un processus de diafiltration.

La couverture de chocolat blanc est de l'entreprise Natra et contient 24% du lait.

La base laitière est obtenue par le mélange du lait pasteurisé, de la crème fraîche, de la protéine du lait, et du chocolat blanc qui sont des ingrédients complexes d'origines diverses avec de teneurs différentes de lactose.

### **1.2. L'enzyme**

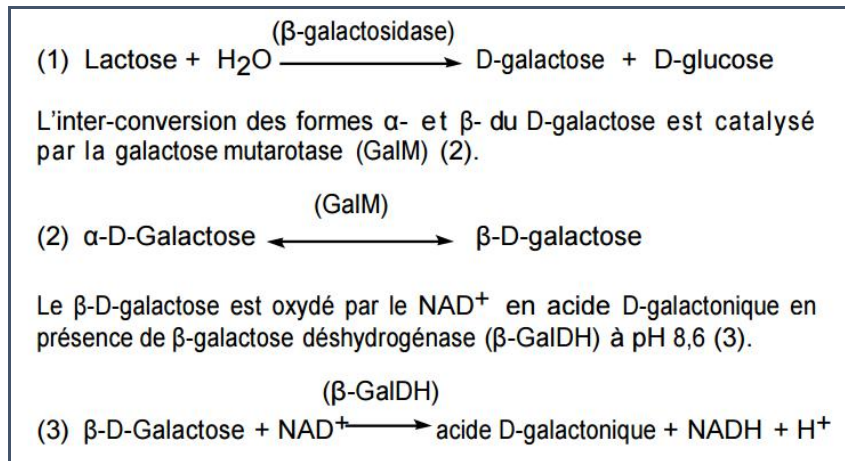
Pour l'hydrolyse du lactose on utilise l'enzyme Maxilact, qui est une préparation purifiée de lactase isolé d'une levure spéciale de lait, *Saccharomyces (Kluyveromyces marxianus lactis)*. L'enzyme a une activité minimale de 5000 NLU/g. Les conditions favorables pour cette enzyme sont le pH de 6,6 à 6,8 et la température de 35 à 40 °C.

### **1.3. La détermination de la teneur en lactose. Méthode enzymatique**

La norme internationale prévoit deux méthodes enzymatiques destinées à la détermination de la teneur en lactose, car celui-ci peut être hydrolysé en glucose et galactose. La teneur en lactose a été déterminée par la voie de D-galactose. Le kit enzymatique utilisé K-Laggar (Lactose/D-Galactose) de la compagnie Megazyme permet de déterminer, par spectrophotométrie la quantité de lactose. Avant d'effectuer l'analyse enzymatique, on clarifie l'échantillon de la base lactée (1 g base lactée+60 g eau distillé). Les protéines du lait sont alors précipitées à l'aide des solutions de Carrez-I et Carrez-II. La solution de Carrez-I est une solution d'hexacyanoferrate de potassium ( $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ ) et la solution de Carrez-II est composée d'un mélange de sulfate de zinc ( $ZnSO_4$ ) et d'hydroxyde de sodium (NaOH).

**Principe:** Les réactions enzymatiques intervenant dans l'analyse du lactose se retrouvent à la figure 2. Le lactose est hydrolysé en D-glucose et D-galactose en présence de l'enzyme lactase et de l'eau.

La quantité de NADH formée dans cette dernière réaction est proportionnelle à la quantité de D-Galactose et de lactose respectivement. C'est le NADH qui est mesuré par l'augmentation de l'absorbance à 340 nm.



**Fig. 2.** Les réactions enzymatiques dans la détermination du lactose

La quantité de lactose est définie à partir de la différence entre la concentration de D-Galactose avec et sans hydrolyse avec la lactase. Enfin, la concentration de lactose a été calculé par la formule suivante:

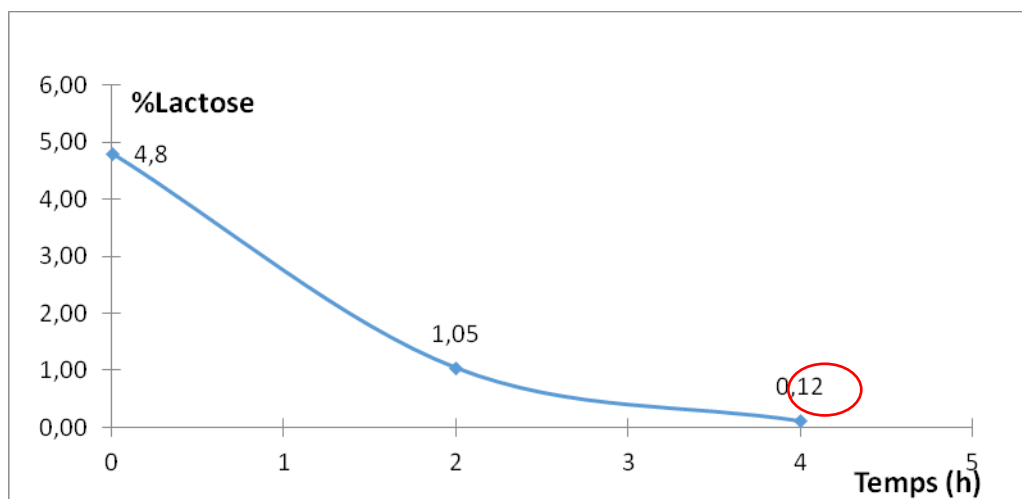
$$c = \frac{V \times MV}{\varepsilon \times d \times v} \times \Delta A \quad (1)$$

Où: V - volume final (mL); MW - masse moléculaire de la substance (g/mol);  $\varepsilon$  = coefficient d'extinction de NADH à 340 nm; d = trajet de la lumière; v = volume de l'échantillon.

Le temps d'analyse de la teneur en lactose, utilisant la méthode enzymatique par la voie D-galactose est très rapide: 5 minutes approximativement à température ambiante.

## 2. Résultats et Discussions

Les expériences effectuées établissent que pendant 4 heures l'hydrolyse est efficace également en rapport avec la dose utilisé, si la dose est moins de 2 g/L lactase, le lactose n'est pas hydrolysé complètement.



**Fig. 3.** L'hydrolyse du lactose dans un fromage crème au chocolat blanc, lactase=2 g/L

Initialement, le fromage crème a une concentration de 4,8% de lactose, c'est une basse teneur du lactose, qui ne favorise pas la transgalactosylation du glucose et galactose.

Il a été démontré que les produits de la réaction de transgalactosylation „galacto-oligosaccharides” constituent un facteur stimulant la croissance des Bifidobactéries, et permettraient donc un enrichissement de la flore intestinale en Bifidobactéries au dépens d'autres microorganismes, en particulier des bactéries pathogènes [7]. C'est inadmissible d'avoir des bactéries dans le fromage étudié, parce que ce

produit ne s'obtient pas par la fermentation, à l'opposé le pH est contrôlé pour éviter la formation d'acide lactique.

Dans la pratique, pour la réalisation de l'hydrolyse on a utilisé un thermomix en acier inoxydable, qui n'a pas un effet inhibiteur sur l'enzyme, le lait et les autres ingrédients utilisés n'ont pas d'exigences particulières pour ce type de matériau.

Comme la lactase utilisée provient d'une levure des produits laitiers, on a observé que les conditions optimales sont proches de la température et du pH naturel du lait, en d'autres termes, le pH de 6,4 à 6,6 et la température de 35-40 ° C. La lactase est plus active à une température de 30 °C, mais pour assurer la qualité et la sécurité sanitaire du fromage analysé, il est essentiel d'appliquer un processus thermique adéquat pour rendre le produit commercialement stérile.

Pour prolonger la durée de conservation et supprimant la flore pathogène, on a utilisé la nisine - agent antibactérien. Pendant l'hydrolyse le pH n'est pas stable, s'observe une diminution, mais qui n'inhibe pas l'activité de l'enzyme. La lactase actionne effectivement.

Les monosaccharides formés par l'hydrolyse du lactose augmentent la douceur du produit [5].

## Conclusion

Le but de cette recherche était de réduire le contenu de lactose sans affecter le processus d'élaboration et en même temps la qualité du fromage crème au chocolat, qui est un produit complexe, ayant diverses sources de lactose, pas seulement du lait (crème fraîche, protéines sériques, chocolat blanc).

Il n'est pas généralement nécessaire pour hydrolyser le lactose 100%, sauf dans les cas extrêmes de malabsorption du lactose [4]. Le produit étudié est considéré sans lactose s'il s'agit d'un pourcentage de 0,15 à 0,01 % du lactose.

L'hydrolyse enzymatique du lactose est un procédé biotechnologique important dans l'industrie alimentaire. Les caractéristiques sensorielles et technologiques de la nourriture peuvent être améliorées par l'hydrolyse du lactose.

L'hydrolyse du lactose dans le fromage crème, par exemple, améliore considérablement l'onctuosité. De plus, après l'hydrolyse du lactose, le produit est plus sucré, c'est dû au fait que le pouvoir sucrant du lactose est inférieure aux celles de ses monosaccharides constitutifs, le galactose et le glucose.

## Bibliographie

1. Burvall A., 1978. *Lactose hydrolysis: nutritional and technological problems*. Dissertation, Department of applied nutrition, Chemical Centre, University of Lund, Sweden.
2. Dekker PJT, Daamen CBG, 2011.  *$\beta$ -D-galactosidase*. Encyclopedia of dairy science, vol 2, Academic, London.
3. Harju et al., 2012. *Lactose hydrolysis and other conversions in dairy products: technological aspects*. Int. Dairy J., 22 (2012), pp. 104–109.
4. Dutra M. et al., 2015. *Lactose Hydrolysis in Milk and Dairy Whey Using Microbial  $\beta$ -Galactosidases*. Enzyme Research, Article ID 806240, 7 pages, Lajeado, RS, Brazil.
5. Mlichová and Rosenberg, 2006. *Current trends of  $\beta$ -galactosidase application in food technology*. J. Food Nutr. Res., 45, pp. 47–54.
6. Shakeel-Ur-Rehman, 2009. *Lactose, water, salts and minor constituents*. vol 3. In: McSweeney PLH, Fox PF (eds) *Advanced dairy chemistry*, 3rd edn. Springer, United States.
7. Tanaka T., Takayama H., et al., 1983. *Effects of Administration of TOS and Bifidobacterium breve 4006 on the Human Fecal Flora. Bifidobacteria Microflora*. Vol. 2, Yakult Central Institute for Microbiological Research.