

DECISION

**du Comité de Ministres de l'Union économique Benelux
concernant l'application de méthodes d'analyse de référence Benelux
en matière de lait concentré sucré ou non**

M (73) 12

Le Comité de Ministres de l'Union économique Benelux,

Vu l'article 1^{er} du Protocole du 29 avril 1969 relatif à la suppression des contrôles et formalités aux frontières intérieures du Benelux et à la suppression des entraves à la libre circulation,

Vu la Recommandation du Comité de Ministres du 25 octobre 1965, relative à l'harmonisation des législations en matières de lait concentré sucré ou non, M (65) 6,

Considérant qu'il y a lieu d'éviter des contestations nées de l'application de techniques d'analyse différentes ou de l'emploi de normes différentes,

Considérant qu'en particulier l'harmonisation du contrôle des denrées alimentaires exige la mise en œuvre de techniques identiques ou équivalentes et l'emploi de modes d'expression semblables et le recours à des normes identiques ou équivalentes,

Considérant qu'il y a lieu de remplacer la Recommandation du Comité de Ministres du 11 décembre 1968, concernant l'application de méthodes d'analyse de référence Benelux en matière de lait concentré sucré ou non, M (68) 50, par une Décision qui tienne compte de l'évolution récente en ce domaine, notamment sur le plan international,

A pris la décision suivante :

Article 1^{er}

Les Gouvernements des trois pays du Benelux prendront, avant le 1^{er} octobre 1973, les mesures nécessaires afin d'introduire dans leurs législations comme seules méthodes d'analyse de référence Benelux valables, les méthodes d'analyse ci-annexées relatives au lait concentré, sucré ou non.

Article 2

La Recommandation du Comité de Ministres du 11 décembre 1968 concernant l'application de méthodes d'analyse de référence Benelux se rapportant à la Recommandation M (65) 6 relative à l'harmonisation des législations en matière de lait concentré sucré ou non, M (68) 50, est abrogée.

FAIT à Bruxelles, le 17 juillet 1973.

Le Président du Comité de Ministres,

L.J. BRINKHORST

METHODES D'ANALYSE
concernant le lait concentré sucré ou non

1. — Préparation de l'échantillon

1.1. — Echantillon destiné à une analyse chimique

1.1.1. — Lait concentré

Agiter et retourner le récipient (tiédir les échantillons conservés au froid préalablement à 20° C). Ouvrir le récipient, transvaser lentement le lait dans un deuxième récipient (pourvu d'une fermeture étanche) et mélanger par transvasements successifs, en prenant soin d'incorporer dans l'échantillon toute matière grasse ou autre constituant adhérent aux parois et aux fonds du premier récipient. Enfin, transvaser le lait aussi complètement que possible dans le deuxième récipient. Fermer le récipient.

Si nécessaire, tiédir la boîte fermée sur un bain-marie à 40-60° C. Enlever et agiter vigoureusement la boîte toutes les 15 min. Au bout de 2 h, retirer la boîte et la laisser refroidir jusqu'à la température ambiante. Oter entièrement le couvercle et mélanger soigneusement en remuant le contenu dans la boîte avec une cuillère ou une spatule (si la matière grasse se sépare, ne pas effectuer l'analyse de l'échantillon).

1.1.2. — Lait concentré sucré

Ouvrir le récipient et mélanger soigneusement le lait avec une cuillère ou une spatule (tiédir les échantillons conservés au froid préalablement à 20° C). Imprimer à cet instrument un mouvement rotatif ascendant et descendant de manière que les couches supérieures et les couches inférieures soient bien mélangées au reste du contenu. Prendre soin de réincorporer dans l'échantillon toute masse de lait pouvant adhérer aux parois et aux fonds du récipient. Transvaser le lait aussi complètement que possible dans un second récipient (pourvu d'une fermeture étanche). Fermer le récipient.

Si nécessaire, tiédir la boîte fermée sur un bain-marie à 30-40° C. Ouvrir la boîte, décoller tout le lait adhérent aux parois de la boîte, transvaser dans une capsule suffisamment grande pour permettre un brassage soigneux. Mélanger jusqu'à ce que toute la masse soit homogène et fermer le récipient.

Dans le cas de tubes souples, les ouvrir et transvaser le contenu dans un vase. Découper les tubes, décoller toutes les matières adhérentes aux parois et les introduire dans le vase. Fermer le vase avec une fermeture étanche.

1.2. — Echantillon destiné à une analyse microbiologique

1.2.1. — Lait concentré (*)

1.2.2. — Lait concentré sucré (*)

2. — Teneur en matière sèche

Appareils et matières auxiliaires

Balance analytique

Capsules de préférence en aluminium, nickel ou en acier inoxydable. Les capsules doivent être munies de couvercles s'adaptant convenablement mais pouvant être ôtés aisément. Les dimensions convenant le mieux sont : diamètre 6 à 8 cm, profondeur 2,5 cm environ.

Étuve, bien ventilée et contrôlée par thermostat, température réglée à $102 \pm 2^\circ \text{C}$. Il importe que la température soit uniforme dans l'ensemble de l'étuve.

Dessiccateur garni de gel de silice avec indicateur d'humidité. Sable de quartz ou sable de mer, traité à l'acide chlorhydrique, passant à travers un tamis de 10 ouvertures par cm, mais ne passant pas à travers un tamis de 40 ouvertures par cm et qui répond au test de contrôle décrit ci-dessous.

Chauffer environ 25 g de sable pendant 2 h dans l'étuve et peser comme décrit sous 2.1.1. à 2.1.3. Ajouter de l'eau distillée, chauffer à nouveau dans l'étuve et peser à nouveau. La différence entre les deux pesées ne doit pas dépasser 2,0 mg.

Le cas échéant traiter le sable pendant 3 jours avec l'acide chlorhydrique 25 % ; mélanger de temps en temps. Laver à l'eau jusqu'à disparition de la réaction acide et sécher finalement à 160°C .

Courtes baguettes de verre

Bain-marie en forte ébullition

2.1. — Mode opératoire

2.1.1. — Placer dans la capsule environ 25 g de sable et une courte baguette de verre.

2.1.2. — Chauffer la capsule et son contenu, le couvercle enlevé, pendant 2 h dans l'étuve.

2.1.3. — Replacer le couvercle sur la capsule et la transférer dans le dessiccateur. Laisser refroidir à la température ambiante et peser à 0,1 mg près.

(*) Cette méthode fera l'objet d'un complément aux présentes méthodes d'analyse.

- 2.1.4. — Amasser le sable vers un bord de la capsule. Introduire, dans l'espace libre ainsi ménagé, environ 1,5 g de l'échantillon. Replacer le couvercle et peser à 0,1 mg près.
- 2.1.5. — Enlever le couvercle, ajouter 5 ml d'eau distillée et mélanger les liquides au moyen de la baguette de verre. Répartir le mélange sur le sable. Laisser la baguette dans le mélange.
- 2.1.6. — Placer la capsule sur le bain-marie en forte ébullition jusqu'à ce que l'eau soit évaporée ; ceci est généralement le cas après 20 min. Remuer le mélange de temps en temps.
- 2.1.7. — Chauffer la capsule et le couvercle pendant 1 1/2 h dans l'étuve.
- 2.1.8. — Remettre le couvercle, transférer la capsule dans le dessiccateur et l'y laisser refroidir jusqu'à la température ambiante et peser à 0,1 mg près.
- 2.1.9. — Découvrir la capsule et la chauffer, ainsi que son couvercle, pendant 1 h dans l'étuve.
- 2.1.10. — Répéter l'opération 2.1.8.
- 2.1.11. — Répéter les opérations décrites sous 2.1.9 et 2.1.10 jusqu'à ce que les pesées successives ne révèlent pas un écart supérieur à 0,5 mg ou que la masse augmente. Employer pour le calcul la pesée avec la masse la plus basse.
- 2.1.12. — Calculer la teneur en matière sèche de l'échantillon, exprimée en pourcentage pondéral, par la formule :

$$\frac{M_2 - M_1}{S} \times 100$$

où :

M_1 = masse, en grammes, de la capsule après l'opération 2.1.3.

M_2 = masse, en grammes, de la capsule après l'opération 2.1.8, 2.1.10 ou 2.1.11

S = masse, en grammes, de la prise d'essai utilisée.

3. — Teneur en matière grasse

Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique et ne doivent pas laisser à l'évaporation de résidu plus important que celui prévu pour l'essai à blanc (3.1). Le cas échéant, les réactifs pourront être distillés à nouveau en présence d'environ 1 g de graisse de beurre pour 100 ml. de solvant.

L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau d'une pureté au moins égale à celle de l'eau distillée.

Solution d'ammoniaque, environ 25 % (m/m) de NH_3 (densité à 20° C, environ 0,91 g/ml), ou solution plus concentrée de concentration connue.

Ethanol, à 96 ± 2 % (v/v) ou à défaut éthanol dénaturé avec du méthanol, de l'éthyl-méthyl-cétone, du benzène ou de l'éther de pétrole.

Oxyde diéthylique (éther diéthylique) exempt de peroxydes

Note

S'assurer que l'oxyde diéthylique est exempt de peroxydes comme indiqué ci-après. Introduire, dans une fiole conique avec bouchon rodé et rincée préalablement au dioxyde de carbone, 50 ml de l'oxyde diéthylique. Rincer à nouveau au dioxyde de carbone et introduire rapidement 15 ml d'acide acétique glacial et 1 ml d'une solution à 20 % d'iodure de potassium et boucher la fiole immédiatement. Agiter la fiole sans mouiller le bouchon et laisser reposer la fiole pendant 5 min. à l'abri de la lumière. Ajouter 75 ml d'eau, mélanger et ajouter 5 ml d'une solution d'amidon. L'oxyde diéthylique est exempt de peroxydes si aucune coloration n'apparaît.

Ether de pétrole distillant entre 30 et 60° C.

Mélange de solvants préparé peu de temps avant l'emploi par le mélange de volumes égaux d'oxyde diéthylique et d'éther de pétrole (On pourra remplacer le mélange de solvants, là où son utilisation est prescrite, par de l'oxyde diéthylique ou par de l'éther de pétrole).

Appareils et matières auxiliaires

Balance analytique

Tubes d'extraction d'après Mojonner (voir croquis page 24) pourvus de bouchons en verre rodé, de bouchons en liège ou d'autres fermetures insensibles à l'action des solvants utilisés.

On traitera les bouchons en liège de bonne qualité par épuisement avec de l'oxyde diéthylique, puis avec de l'éther de pétrole. Les bouchons ainsi traités seront maintenus au moins 20 min. dans de l'eau à 60° C au minimum, puis refroidis dans l'eau afin d'en être imprégnés au moment de l'emploi.

Flacons à fond plat et à paroi mince, de 150 à 250 ml.

Etuve à dessiccation bien ventilée et contrôlée par thermostat (température réglée à 102 ± 2 ° C) ou étuve à vide (température 70-75° C, pression inférieure à 50 mm de Hg).

Matériaux destinés à faciliter l'ébullition, exempts de matière grasse, non poreux et non friables, par exemple perles de verre ou morceaux de carbure de silicium (l'emploi de ces matériaux est facultatif, voir à ce sujet alinéa 3.2.1).

3.1. — Essai à blanc

En même temps que la détermination de la teneur en matière grasse de l'échantillon, effectuer un essai à blanc avec 10 ml d'eau distillée en suivant le mode opératoire décrit ci-après à l'exclusion de l'alinéa 3.2.2. Si la valeur de l'essai à blanc dépasse 0,5 mg il conviendra de vérifier les réactifs et de purifier ou remplacer le ou les réactifs impurs.

3.2. — Mode opératoire

3.2.1. — Sécher le flacon (éventuellement après y avoir déposé des matériaux facilitant une ébullition modérée au cours de l'évaporation des solvants) dans l'étuve pendant 1/2 h à 1 h. Laisser refroidir le flacon jusqu'à la température de la salle des balances et peser le flacon une fois refroidi à 0,1 mg près.

3.2.2. — Agiter l'échantillon préparé et peser immédiatement à 1 mg près, soit directement, soit par différence, de 4 à 5 g de l'échantillon bien mélangé, dans le tube d'extraction. Ajouter environ 7 ml d'eau et agiter doucement en chauffant légèrement (40-50° C) jusqu'à dispersion totale du produit.

3.2.3. — Ajouter 1,5 ml de la solution d'ammoniaque 25 % ou un volume équivalent d'une solution plus concentrée et mélanger.

3.2.4. — Ajouter 10 ml d'éthanol et mélanger les liquides doucement mais soigneusement dans le tube d'extraction maintenu ouvert.

3.2.5. — Ajouter 25 ml d'oxyde diéthylique, fermer le tube d'extraction, l'agiter énergiquement et le retourner à plusieurs reprises pendant 1 min. Refroidir au besoin le tube d'extraction sous l'eau courante.

3.2.6. — Enlever le bouchon avec précaution et ajouter 25 ml d'éther de pétrole en utilisant les premiers millilitres pour rincer le bouchon et l'intérieur du col du tube d'extraction. Remettre le bouchon en place, agiter et renverser le tube d'extraction à plusieurs reprises pendant 30 sec. Si l'on ne prévoit pas de centrifugation lors de l'opération décrite à l'alinéa 3.2.7., ne pas agiter trop énergiquement.

3.2.7. — Laisser le tube d'extraction au repos jusqu'à ce que la couche liquide supérieure devienne limpide et se sépare nettement de la phase aqueuse. On peut également effectuer la séparation à l'aide d'une centrifugeuse appropriée ne produisant pas d'étincelles.

3.2.8. — Enlever le bouchon et le rincer ainsi que l'intérieur du col du tube d'extraction avec quelques millilitres du mélange de solvants ; laisser les liquides de rinçage couler dans le tube d'extraction. Transvaser avec soin aussi complètement que possible

la couche supérieure dans le flacon (3.2.1) par décantation. Ajouter si nécessaire, un peu d'eau pour réhausser l'interface des deux couches afin de faciliter la décantation.

3.2.9. — Rincer l'extérieur et l'intérieur du col du tube d'extraction avec quelques millilitres du mélange de solvants. Laisser les liquides de rinçage de l'extérieur du tube d'extraction couler dans le flacon et ceux de l'intérieur du col couler dans le tube d'extraction.

3.2.10. — Procéder à une deuxième extraction en répétant les opérations décrites aux alinéas 3.2.4 à 3.2.9 inclus mais en utilisant seulement 5 ml d'éthanol, 15 ml d'oxyde diéthylique et 15 ml d'éther de pétrole.

3.2.11. — Effectuer une troisième extraction en procédant comme décrit à l'alinéa 3.2.10 mais en omettant l'addition de l'éthanol et le rinçage final (3.2.9).

Remarque

Cette troisième extraction n'est pas nécessaire dans le cas du lait écrémé concentré sucré ou non.

3.2.12. — Eliminer avec soin par évaporation ou distillation le maximum de solvant (y compris l'éthanol). Si le flacon est de petite capacité, il faudra éliminer un peu de solvant de la manière précitée après chaque extraction.

3.2.13. — Quand il ne subsiste plus aucune odeur de solvant, chauffer le flacon, couché, pendant 1 h dans l'étuve.

3.2.14. — Laisser le flacon refroidir jusqu'à la température de la salle des balances comme indiqué plus haut (3.2.1) et peser à 0,1 mg près.

3.2.15. — Répéter les opérations 3.2.13 et 3.2.14 en chauffant par périodes de 30 à 60 min. jusqu'à masse constante.

3.2.16. — Ajouter 15 à 25 ml d'éther de pétrole pour vérifier que la matière extraite est entièrement soluble. Chauffer légèrement et agiter par un mouvement rotatoire jusqu'à ce que toute la matière grasse soit en solution.

3.2.16.1. — Si la matière extraite est entièrement soluble dans l'éther de pétrole, la masse de la matière grasse est représentée par la différence entre la pesée 3.2.1 et la pesée 3.2.15.

3.2.16.2. — S'il n'en est pas ainsi, ou en cas de doute et toujours en cas de différend, extraire complètement la matière grasse

contenue dans le flacon par des lavages répétés à l'éther de pétrole chaud, en laissant se déposer la matière non dissoute avant chaque décantation. Rincer 3 fois l'extérieur du col du flacon. Chauffer le flacon, couché, pendant 1 h à l'étuve et le laisser refroidir jusqu'à la température de la salle des balances comme indiqué plus haut (3.2.1) et peser à 0,1 mg près. La masse de la matière grasse est représentée par la différence entre la pesée (3.2.15) et cette pesée finale.

3.2.17. — Calculer la teneur en matière grasse de l'échantillon, exprimée en pourcentage pondéral, par la formule :

$$\frac{(M_1 - M_2) - (B_1 - B_2)}{S} \times 100$$

où :

M_1 = masse, en grammes, du flacon avec la matière grasse après l'opération 3.2.15

M_2 = masse, en grammes, du flacon après l'opération 3.2.1 ou dans le cas où des matières insolubles sont présentes (voir 3.2.16.2), après l'opération 3.2.16.2

B_1 = masse, en grammes, du flacon de l'essai à blanc après l'opération 3.2.15

B_2 = masse, en grammes, du flacon de l'essai à blanc après l'opération 3.2.1 ou, dans le cas où des matières insolubles sont présentes (voir 3.2.16.2) après l'opération 3.2.16.2

S = masse, en grammes, de la prise d'essai utilisée.

4. — Teneur en acide lactique

4.1. — Lait concentré non sucré

Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau d'une pureté au moins égale à celle de l'eau distillée.

Solution de sulfate de cuivre : dissoudre 250 g de sulfate de cuivre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau et compléter à 1.000 ml.

Suspension d'hydroxyde de calcium : broyer 300 g d'hydroxyde de calcium ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) dans un mortier avec de l'eau ; utiliser au total 900 ml. Conserver la suspension obtenue dans un flacon bien bouché.

Acide sulfurique : 95,5 à 97,0 % (m/m) de H_2SO_4 .

Solution acide sulfurique-sulfate de cuivre : ajouter 0,5 ml de la solution de sulfate de cuivre à 300 ml d'acide sulfurique et mélanger.

Solution de p-hydroxydiphényl : dissoudre en agitant, et en chauffant légèrement 1,5 g de p-hydroxydiphényl ($C_6H_5C_6H_4OH$) dans 10 ml d'une solution aqueuse de NaOH à 5 %.

Compléter à 100 ml avec de l'eau.

Conserver la solution dans un flacon en verre brun à l'abri de la lumière. La durée de conservation est limitée à 4 semaines.

Solution étalon d'acide lactique : dissoudre peu de temps avant l'emploi, 0,1067 g de lactate de lithium ($CH_3CHOHCOOLi$) dans de l'eau et compléter à 1.000 ml ; 1 ml de cette solution correspond à 0,1 mg d'acide lactique.

Appareils et matières auxiliaires.

Balance analytique

Spectrophotomètre ou photocolorimètre permettant de faire la lecture à une longueur d'onde de 570 nm.

Bain-marie de $30 \pm 2^\circ C$

Bain-marie bouillant

Tubes à essai (dimensions 25 × 160 mm)

4.1.1. — Mode opératoire

87

4.1.1.1. — Peser à 0,1 g près $\frac{\quad}{a}$ g de l'échantillon
a — 8,7

(a représentant le pourcentage en matières sèches dégraissées du lait de l'échantillon). Diluer cette quantité avec 10 ml d'eau.

4.1.1.2. — Pipeter 5 ml de la solution ainsi obtenue dans un ballon jaugé de 50 ml et diluer avec de l'eau jusqu'à environ 35 ml. Pour le blanc introduire environ 35 ml d'eau dans un deuxième ballon jaugé de 50 ml. Traiter les deux ballons comme indiqué en 4.1.1.3.

4.1.1.3. — Ajouter sous agitation continue 5 ml de solution de sulfate de cuivre, maintenir les ballons pendant 10 min. à la température ambiante.

Ensuite ajouter de la même façon 5 ml de suspension d'hydroxide de calcium, maintenir les ballons à nouveau pendant 10 min. à la température ambiante. Ajuster avec de l'eau jusqu'à 50 ml, agiter énergiquement jusqu'à ce que le contenu des ballons soit homogène, filtrer ; rejeter les premières gouttes du filtrat.

4.1.1.4. — Pipeter dans un tube à essai 1 ml du filtrat obtenu sous 4.1.1.3., et dans un tube identique 1 ml du filtrat obtenu lors du traitement de l'eau avec les liquides défécants. Traiter les deux tubes comme suit : ajouter 6,0 ml de solution d'acide sulfurique-sulfate de cuivre et mélanger. Chauffer pendant 5 min.

dans un bain-marie bouillant les tubes fermés d'une manière lâche et refroidir jusqu'à température ambiante. Ajouter 2 gouttes de réactif au p-hydroxydiphényl et agiter énergiquement afin de bien répartir le réactif dans le liquide.

Mettre les tubes au bain-marie à $30 \pm 2^\circ \text{C}$, les y maintenir pendant 15 min. et agiter de temps en temps.

Réchauffer le contenu des tubes légèrement fermés, pendant 90 sec. dans un bain-marie bouillant et refroidir rapidement jusqu'à température ambiante.

4.1.1.5. — Mesurer la différence d'extinction des deux liquides à la longueur d'onde de 570 nm.

Convertir au moyen de la droite d'étalonnage (4.1.2.) la différence d'extinction en pourcentage d'acide lactique dans le lait reconstitué obtenu selon le procédé décrit sous 4.1.1.1.

Si le pourcentage en acide lactique dans le lait reconstitué est supérieur à 0,010 % répéter l'essai avec une dilution adéquate du filtrat obtenu sous 4.1.1.3.

4.1.2. — Droite d'étalonnage

Introduire dans 5 ballons jaugés de 50 ml respectivement 5 ml de lait reconstitué d'un lait évaporé comme décrit sous 4.1.1.1. Ce lait évaporé doit être de bonne qualité et préparé à partir d'un lait ne contenant pas ou presque pas d'acide lactique d'acidification.

Introduire dans ces ballons respectivement 0 - 1 - 2 - 3 et 4 ml de la solution étalon d'acide lactique et compléter avec de l'eau jusqu'à environ 35 ml. On obtient ainsi une série avec des teneurs en acide lactique ajouté au lait reconstitué de 0 - 0,002 - 0,004 - 0,006 et 0,008 %.

Continuer comme décrit sous 4.1.1.3. et 4.1.1.4 et mesurer l'extinction par rapport à l'eau. Porter sur un diagramme les extinctions des éléments de la gamme d'étalonnage en fonction du pourcentage d'acide lactique additionné. Joindre les points par la droite la plus appropriée et la déplacer parallèlement à elle-même de façon à la faire passer par l'origine. Les points de la gamme d'étalonnage doivent se situer sur une droite.

4.1.3. — Interprétation du résultat

L'acide lactique est considéré n'être présent qu'en traces si la teneur obtenue selon 4.1.1.5 n'atteint pas plus que 0,020 %.

4.2. — Lait concentré sucré

Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau d'une pureté au moins égale à celle de l'eau distillée.

Acide sulfurique dilué : H_2SO_4 1 n environ.

Acide sulfurique 1 : 1 : mélanger 1 volume d'acide sulfurique concentré (ca. 96 % (m/m) de H_2SO_4) avec 1 volume d'eau.

Solution d'acide phosphotungstique : dissoudre 20 g d'acide phosphotungstique ($12\text{WO}_3 \cdot \text{H}_3\text{PO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$) dans l'eau et compléter à 100 ml.

Sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4)

Oxyde diéthylique (éther diéthylique) exempt de peroxydes : Agiter, peu de temps avant l'emploi, environ 1 l d'oxyde diéthylique avec 90 ml d'eau et 10 ml d'une solution de sulfate de fer (II) (pour préparer cette solution dissoudre 60 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dans 110 ml d'eau et ajouter 6 ml d'acide sulfurique concentré). Laver ensuite 2 fois avec 100 ml d'eau. L'oxyde diéthylique doit être utilisé le jour même.

Acide sulfurique : 95,5 à 97,0 % (m/m) de H_2SO_4

Solution de sulfate de cuivre : dissoudre 25 g de sulfate de cuivre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau et compléter à 100 ml.

Solution acide sulfurique-sulfate de cuivre : ajouter 0,5 ml de la solution de sulfate de cuivre à 300 ml d'acide sulfurique et mélanger.

Solution de p-hydroxydiphényl : dissoudre en agitant, et en chauffant légèrement, 1,5 g de p-hydroxydiphényl ($\text{C}_6\text{H}_5\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$) dans 10 ml d'une solution aqueuse de NaOH à 5 %. Compléter à 100 ml avec de l'eau.

Conserver la solution dans un flacon en verre brun à l'abri de la lumière. La durée de conservation est limitée à 4 semaines.

Solution étalon d'acide lactique : dissoudre peu de temps avant l'emploi, 0,1067 g de lactate de lithium ($\text{CH}_3\text{CHOHCOOLi}$) dans de l'eau et compléter à 1.000 ml : 1 ml de cette solution correspond à 0,1 mg d'acide lactique.

Appareils et matières auxiliaires

Perforateur pour 50 à 75 ml de liquide

Balance permettant d'effectuer les pesées jusqu'à 1 mg près

Spectrophotomètre ou photocolorimètre permettant de faire la lecture à une longueur d'onde de 570 nm

Bain-marie de $30 \pm 2^\circ \text{C}$

Bain-marie chauffé électriquement

Tubes à essai (dimensions 25 × 160 mm)

4.2.1. — Mode opératoire

4.2.1.1. — Peser, dans un bécher de 100 ml, $15,0 \pm 0,1$ g de lait concentré sucré. Transvaser quantitativement le lait concentré sucré dans un ballon jaugé de 100 ml par lavages successifs avec de l'eau chaude de façon à obtenir un volume de 75 à 80 ml.

Refroidir jusqu'à la température ambiante. Ajouter 4 ml d'acide sulfurique 1 n et mélanger prudemment. Ajouter 3 ml de la solution d'acide phosphotungstique et compléter avec de l'eau. Agiter énergiquement jusqu'à ce que le contenu du ballon soit homogène ; filtrer sur filtre plissé.

4.2.1.2. — Prélever, au moyen d'une éprouvette graduée, 50 ml du filtrat et les introduire dans un bécher de 100 ml dans lequel l'on a déposé préalablement 10 g de sulfate de sodium anhydre. Dissoudre le sulfate de sodium en chauffant sur le bain-marie bouillant ; remuer de temps en temps. Refroidir jusqu'à 30° C et transvaser le contenu du bécher dans le perforateur dans lequel on a introduit préalablement 0,5 ml d'acide sulfurique 1 : 1. Rincer le bécher avec un peu d'eau.

4.2.1.3. — Introduire environ 100 ml d'oxyde diéthylique, exempt de peroxydes, dans un ballon de 250 ml, dans lequel l'on a déposé préalablement de la pierre-ponce et placer le perforateur sur le ballon. Perforer pendant 5 h sur un bain-marie chauffé électriquement de façon à ce que l'extraction s'effectue d'une façon reproductible.

4.2.1.4. — Ajouter à la solution d'acide lactique dans l'oxyde diéthylique 20 ml d'eau et éliminer l'oxyde diéthylique soigneusement par distillation. Retirer immédiatement après la distillation de l'oxyde diéthylique, le ballon du bain-marie et laisser refroidir. Transvaser le contenu du ballon dans un ballon jaugé de 200 ml ; employer de l'eau pour rincer le ballon. Compléter avec de l'eau.

4.2.1.5. — Pipeter 1 ml de la solution ainsi obtenue dans un tube à essai et dans un autre tube 1 ml d'eau. Traiter les deux tubes comme suit : ajouter 6,0 ml de solution d'acide sulfurique-sulfate de cuivre et mélanger. Chauffer pendant 5 min. dans un bain-marie bouillant les tubes fermés d'une manière lâche et refroidir jusqu'à température ambiante. Ajouter 2 gouttes de réactif au p-hydroxydiphényl et agiter énergiquement afin de bien répartir le réactif dans le liquide.

Mettre les tubes au bain-marie à $30 \pm 2^\circ$ C, les y maintenir pendant 15 min. et agiter de temps en temps.

Réchauffer le contenu des tubes légèrement fermés, pendant 90 sec. dans un bain-marie bouillant et refroidir rapidement jusqu'à température ordinaire.

4.2.1.6. — Mesurer la différence d'extinction des deux liquides à la longueur d'onde de 570 nm.

Convertir au moyen de la droite d'étalonnage (4.2.2.) la différence d'extinction en mg d'acide lactique. Calculer le pourcentage d'acide lactique (M) dans le lait reconstitué à partir de la formule :

$$M = \frac{8,7 \times 0,001 \times Z}{0,15 \times a}$$

dans laquelle :

Z = le nombre de mg d'acide lactique

a = la teneur en matières sèches dégraissées de l'échantillon.

Si le pourcentage en acide lactique dans le lait reconstitué est supérieur à 0,010 % répéter l'essai avec une dilution adéquate de la solution obtenue selon 4.2.1.4.

Remarque

Contrôler, dans le cas où des teneurs élevés en acide lactique sont obtenues, si les opérations mentionnées sous 4.2.1.1. jusqu'à 4.2.1.4. ne donnent éventuellement pas lieu à une augmentation de l'extinction en procédant, parallèlement à l'analyse des échantillons, à un essai à blanc avec 15 ml d'eau.

4.2.2. — Droite d'étalonnage

Peser dans 4 béchers de 100 ml chaque fois 15,0 ± 0,1 g d'un échantillon de lait concentré sucré frais.

Ajouter respectivement 0 - 10 - 20 et 30 ml de la solution étalon d'acide lactique ; on obtient ainsi une série avec respectivement 0 - 1 - 2 et 3 mg d'acide lactique ajouté.

Continuer comme décrit sous 4.2.1.1. à 4.2.1.5. inclus et mesurer l'extinction par rapport à l'eau. Porter sur un diagramme les extinctions obtenues par rapport aux quantités d'acide lactique ajouté. Joindre les points par la droite la plus appropriée et la déplacer parallèlement à elle-même de façon à la faire passer par l'origine. Les points doivent se situer sur une droite.

4.2.3. — Interprétation du résultat

L'acide lactique est considéré n'être présent qu'en traces si la teneur obtenue selon 4.2.1.6. n'atteint pas plus que 0,020 %.

5. — Phosphatase

Effectuer l'essai de la phosphatase comme indiqué sous 5.1. Confirmer un résultat positif avec le mode opératoire décrit sous 5.2.

5.1. — Phosphatase, qualitatif

Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau d'une pureté au moins égale à celle de l'eau distillée.

Solution substrat : dissoudre 0,11 g de phénylphosphate disodique ($C_6H_5OPO_3Na_2 \cdot 2H_2O$) dans 80 à 90 ml d'eau, ajouter 3 ml de solution de carbonate sodique 0,25 M (2,65 g carbonate sodique anhydre par 100 ml) et compléter à 100 ml. Cette solution doit être préparée journellement.

Réactif B.Q.C. : dissoudre 23 mg de 2,6-dibromoquinone-4-chloroimide ($O=C_6H_2Br_2=NCl$) dans 5 ml d'éthanol 96 % (v/v).

Conserver cette solution au frais et à l'obscurité pendant maximum 4 semaines.

Alcool isoamylique neutre par rapport au bleu de bromothymol. Neutraliser éventuellement avec une solution 0,1 n d'hydroxyde de sodium.

5.1.1. — Mode opératoire

5.1.1.1. — Préparer, à partir de l'échantillon, avec de l'eau, sans chauffer, une dilution telle que la concentration en matières sèches dégraissées du lait corresponde environ à celle du lait écrémé.

5.1.1.2. — Pipeter dans chacun des 2 tubes à essai 0,5 ml de la solution ainsi obtenue. Placer un des tubes au bain-marie bouillant pendant 5 min. et refroidir ensuite jusqu'à température ambiante.

5.1.1.3. — Ajouter aux 2 tubes à essai avec une pipette jaugée 5 ml de la solution substrat et les conserver bouchés à une température comprise entre 30 et 35° C pendant 1 h.

5.1.1.4. — Ajouter 6 gouttes du réactif B.Q.C. et mélanger. Comparer après 5 min. la coloration des deux tubes.

5.1.1.5. — Si le contenu du tube avec le lait chauffé est moins coloré que celui de l'autre tube la réaction est considérée comme positive.

5.1.1.6. — Ajouter en cas de doute aux deux tubes 2 ml d'alcool isoamylique. Ensuite retourner prudemment les tubes 8 fois, en attendant chaque fois que les couches se soient séparées. La coloration bleue ou bleu-verte éventuellement formée se dissout dans la couche limpide supérieure ; la comparaison des colorations est ainsi notablement améliorée.

Remarque

Il y a lieu d'exiger une grande propreté des tubes, pipettes, bouchons, etc. car la moindre souillure par des phénols ou des substances apparentées peut donner une réaction positive. Ensuite il y a lieu de tenir compte du fait que la salive contient des phosphatases.

5.2. — Phosphatase quantitatif

Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau d'une pureté au moins égale à celle de l'eau distillée et fraîchement bouillie.

Tampon borate de baryum, pH $10,6 \pm 0,1$.

Eviter un contact intensif entre le tampon et l'air afin d'éviter la formation non souhaitée de carbonate.

Dissoudre en chauffant 25,0 g d'hydroxyde de baryum

($\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$), exempt de carbonate, dans l'eau, refroidir à la température ambiante et compléter à 500 ml.

Dissoudre 11,0 g d'acide borique (H_3BO_3) dans l'eau et compléter à 500 ml.

Chauffer les deux solutions jusqu'à 50° C, les mélanger. Refroidir le mélange jusqu'à la température ambiante.

Ajuster le pH si nécessaire à $10,6 \pm 0,1$ à l'aide de la solution d'hydroxyde de baryum et filtrer rapidement. Conserver la solution dans un récipient bouché hermétiquement.

Diluer la solution avant l'emploi avec un volume égal d'eau.

Solution de métaborate de sodium : dissoudre 6,0 g de métaborate de sodium anhydre (NaBO_2), ou 12,6 g de métaborate de sodium ($\text{NaBO}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), et 20,0 g de chlorure de sodium (NaCl) dans l'eau et compléter à 1.000 ml.

Solution substrat tamponnée : dissoudre 0,5 g de phénylphosphate disodique ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OPO}_3\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dans 4,5 ml de la solution de métaborate de sodium.

Extraire si nécessaire le phénol libre de cette solution. Ajouter à cette fin une goutte du réactif B.Q.C. et laisser reposer pendant 30 min. Extraire la couleur formée avec 2,5 ml de butanol-1 et jeter la couche de butanol-1. Répéter si nécessaire cette extraction jusqu'à ce que la couche de butanol-1 reste incolore.

Cette solution peut être conservée pendant quelques jours dans un réfrigérateur. Développer et extraire la couleur journallement avant l'emploi.

Pour préparer la solution de substrat tamponnée, pipeter 1 ml de la solution précédente dans un ballon jaugé de 100 ml et compléter avec le tampon borate de baryum. Préparer la solution de substrat tamponnée immédiatement avant l'emploi.

Réactif sulfate de zinc et de cuivre : dissoudre 3,0 g de sulfate de zinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) et 0,6 g de sulfate de cuivre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) dans l'eau et compléter à 100 ml.

Réactif B.Q.C. : dissoudre 0,040 g de 2,6-dibromoquinone-4-chloroimide ($\text{O}=\text{C}_6\text{H}_2\text{Br}_2=\text{NCl}$) dans 10 ml d'éthanol à 96 % (v/v).

Conserver la solution dans un flacon en verre foncé dans le réfrigérateur.

Solution de dilution : diluer 10 ml de solution de métaborate de sodium jusqu'à 100 ml avec de l'eau.

Solution standard à 200 μg de phénol par ml : dissoudre 0,200 + cuivre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) dans l'eau et compléter à 100 ml.

Solution standard à 200 μg de phénol par ml : dissoudre 0,200 \pm 0,001 g de phénol cristallin et incolore dans l'eau et compléter à 100 ml. Cette solution peut être conservée pendant quelques mois dans le réfrigérateur.

Diluer 10 ml de cette solution à 100 ml avec de l'eau. Purifier le phénol par distillation s'il n'est pas incolore ou cristallin.

Appareils et matières auxiliaires

Balance permettant d'effectuer les pesées jusqu'à 1 mg près.
Spectrophotomètre permettant une lecture à une longueur d'onde de 610 nm, avec cuvettes appropriées.

Bain-marie, avec thermostat, réglé à une température de 37 \pm 1° C.

Tubes à essai, diamètre intérieur de 16 à 18 mm.

Papier filtre, pour analyse quantitative, à filtration lente pour précipités fins.

Précautions

Ne pas effectuer la détermination à la lumière solaire directe, mais à la lumière diffuse ou à la lumière artificielle.

Nettoyer la verrerie soigneusement et la rincer avec de l'eau distillée et bouillie ou la passer à la vapeur. Ne pas employer des produits de nettoyage ou de désinfection contenant des phénols.

Ne pas boucher la verrerie avec des bouchons en matière plastique, ceux-ci pouvant contenir des phénols.

Eviter lors du pipetage la contamination des liquides par la salive ; celle-ci contient de la phosphatase.

5.2.1. — Mode opératoire

87

5.2.1.1. — Peser à 0,1 g près $\frac{87}{a}$ g de l'échantillon
a — 8,7

(a représentant le pourcentage en matières sèches dégraissées du lait de l'échantillon).

Diluer cette quantité avec 10 ml d'eau.

5.2.1.2. — Pipeter dans 2 tubes à essai 1 ml du lait reconstitué d'après 5.2.1.1.

5.2.1.3. — Chauffer l'un des tubes dans l'eau bouillante pendant 2 min. et refroidir ensuite jusqu'à la température ambiante. Ce tube servira pour l'essai à blanc.

Traiter, à partir de ce point, les deux tubes comme indiqué ci-dessous.

5.2.1.4. — Ajouter 10 ml de la solution substrat tamponnée, mélanger et placer les tubes dans le bain-marie à $37 \pm 1^\circ \text{C}$.

5.2.1.5. — Laisser les tubes pendant 60 min. dans le bain-marie et les agiter de temps en temps.

5.2.1.6. — Chauffer aussitôt les tubes au bain-marie bouillant pendant 1 min. et refroidir rapidement jusqu'à la température ambiante.

5.2.1.7. — Ajouter 1 ml du réactif sulfate de zinc et de cuivre, mélanger et filtrer sur papier filtre sec. Jeter les premières gouttes du filtrat. Il importe que le filtrat soit complètement limpide ; repasser le filtrat éventuellement sur le même filtre.

5.2.1.8. — Introduire 5 ml du filtrat dans un tube à essai, ajouter 5 ml de la solution de métaborate de sodium et 0,1 ml du réactif B.Q.C. Laisser reposer à la température ambiante pendant 30 min.

5.2.1.9. — Mesurer, à une longueur d'onde de 610 nm, l'extinction du liquide provenant de l'échantillon par rapport au liquide provenant de l'essai à blanc.

5.2.1.10. — Répéter la détermination s'il s'avère que l'extinction du lait reconstitué dépasse celle correspondant à $20 \mu\text{g}$ de phénol de la solution d'étalonnage. Diluer dans ce cas un volume approprié du lait reconstitué obtenu d'après 5.2.1.1. avec un volume approprié de ce lait dans lequel la phosphatase a été inactivée comme indiqué sous 5.2.1.3.

5.2.2. — Droite d'étalonnage

5.2.2.2. — Pipeter dans 5 tubes à essai respectivement 1 ml d'eau 2,5 - 5 - 7,5 et 10 ml de la solution standard de phénol et compléter avec de l'eau.

5.2.2.2. — Pipeter dans des tubes à essai respectivement 1 ml d'eau et 1 ml des solutions d'étalonnage (5.2.2.1) afin d'obtenir une gamme d'étalonnage avec respectivement 0 - 5 - 10 - 15 et $20 \mu\text{g}$ de phénol.

5.2.2.3. — Ajouter à chaque tube successivement 1 ml de la solution de sulfate de cuivre, 5 ml de la solution de dilution 3 ml d'eau et 0,1 ml du réactif B.Q.C., mélanger. Laisser reposer à la température ambiante pendant 30 min.

5.2.2.4. — Mesurer, à une longueur d'onde de 610 nm, l'extinction par rapport à l'eau des éléments de la gamme d'étalonnage.

5.2.2.5. — Porter sur un diagramme les extinctions mesurées en fonction de la teneur en phénol en μg comme indiqué sous 5.2.2.2. Joindre les points par la droite la plus appropriée, et la déplacer parallèlement à elle-même de façon à la faire passer par l'origine.

5.2.3. — Mode de calcul

5.2.3.1. — Convertir, au moyen de la droite d'étalonnage ou au moyen d'un facteur déduit de cette droite d'étalonnage, l'extinction obtenue selon 5.2.1.9. en μg de phénol.

5.2.3.2. — L'activité phosphatasique, exprimée en μg de phénol par ml de lait reconstitué est obtenue par la formule :

$$2,4 \times P$$

dans laquelle P = le nombre de μg de phénol obtenu selon 5.2.3.1.

5.2.3.3. — Multiplier le résultat obtenu selon 5.2.3.2. par le facteur de dilution si le lait reconstitué a été dilué comme décrit sous 5.2.1.10.

5.2.4. — Interprétation du résultat

La phosphatase est considérée comme absente si l'activité phosphatasique est égale ou inférieure à 4 μg de phénol par ml de lait reconstitué.

6. — Stabilisateurs (*)

7. — Teneur en saccharose

Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau d'une pureté au moins égale à celle de l'eau distillée.

Solution d'acétate de zinc ; dissoudre 21,9 g d'acétate de zinc cristallisé ($\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) et 3 ml d'acide acétique glacial dans de l'eau et compléter à 100 ml.

Solution d'hexacyanoferrate (II) de potassium ; dissoudre 10,6 g d'hexacyanoferrate (II) de potassium cristallisé ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau et compléter à 100 ml.

Acide chlorhydrique 6,35 \pm 0,2 n (20-22 % m/m)

Ammoniaque 2,0 \pm 0,2 n (3,5 % m/m)

Acide acétique 2,0 \pm 0,2 n (12 % m/m)

Appareillage

(*) Cette méthode fera l'objet d'un complément aux présentes méthodes d'analyse.

Balance permettant d'effectuer les pesées jusqu'à 10 mg près

Bain-marie à $60 \pm 1^\circ \text{C}$

Tube de polarimètre de $200 \pm 0,1 \text{ mm}$

Polarimètre ou saccharimètre :

- a. Polarimètre à lumière du sodium ou à lumière verte du mercure (lampe à vapeur de mercure avec prisme ou écran Wratten n° 77A) permettant une lecture d'une précision au moins égale à 0,05 degré d'angle.
- b. Saccharimètre à échelle Internationale de sucre, utilisant de la lumière blanche passant au travers d'un filtre de 15 mm d'une solution à 6 % de bichromate de potassium ou bien de la lumière de sodium et permettant une lecture d'une précision au moins égale à 0,1 degré de l'échelle saccharimétrique Internationale.

7.1. — Contrôle de la méthode

Dans le but de contrôler la méthode, les réactifs et les appareils, on procédera à une double analyse comme décrite ci-dessous, en utilisant un mélange de 100 g de lait, ou de 110 g de lait écrémé et de 18,00 g de saccharose pur correspondant à 40,00 g d'un lait concentré contenant 45,0 % de saccharose.

Calculer la teneur en saccharose à l'aide de la formule du paragraphe 7.2.13. en utilisant dans la formule I, pour W, F et P la quantité de lait pesée et les teneurs en matière grasse et en protéines de ce lait et, dans la formule II, pour W, le chiffre de 40,00.

La moyenne des valeurs trouvées ne doit pas différer de cette valeur (45,0 %) de plus de 0,1 %.

7.2. — Mode opératoire

7.2.1. — Peser dans un bécher de 100 ml exactement à 10 mg près, 40 g env. de l'échantillon convenablement mélangé. Ajouter 50 ml d'eau chaude ($80-90^\circ \text{C}$) et mélanger soigneusement.

7.2.2. — Transvaser quantitativement le mélange dans un ballon jaugé de 200 ml, rincer le bécher avec des quantités successives d'eau à 60°C jusqu'à ce que le volume total soit de 120 à 150 ml. Mélanger et refroidir à température ambiante.

7.2.3. — Ajouter 5 ml de la solution d'ammoniaque 2 n. Mélanger de nouveau et laisser reposer pendant 15 min.

7.2.4. — Neutraliser l'ammoniaque en ajoutant une quantité équivalente de la solution diluée d'acide acétique. Déterminer au préalable exactement une quantité par titrage de la solution d'ammoniaque diluée en employant le bleu de bromothymol comme indicateur. Mélanger.

- 7.2.5. — Ajouter, en mélangeant doucement par rotation du ballon incliné, 12,5 ml de solution d'acétate de zinc.
- 7.2.6. — De la même manière que pour la solution d'acétate, ajouter 12,5 ml de solution d'hexacyanoferrate (II) de potassium.
- 7.2.7. — Porter le contenu du ballon à 20° C et ajouter de l'eau (à 20° C) jusqu'au trait de jauge de 200 ml.

Remarque

Jusqu'à ce stade, toutes les additions d'eau ou de réactifs seront effectuées de manière à éviter la formation de bulles d'air et pour cette même raison, tous les mélanges sont effectués par rotation du ballon plutôt que par agitation violente. Si on constate la présence de bulles d'air avant la mise au trait (200 ml) on peut les éliminer en reliant le ballon à une pompe à vide et en lui imprimant un mouvement de rotation.

- 7.2.8. — Boucher le ballon avec un bouchon sec et mélanger intimement en secouant énergiquement.
- 7.2.9. — Laisser reposer pendant quelques minutes, filtrer ensuite sur papier filtre sec. Éliminer les premiers 25 ml de filtrat.
- 7.2.10. — Polarisation directe
- Déterminer la rotation optique du filtrat à $20 \pm 2^\circ \text{ C}$

7.2.11. — Inversion

Introduire à la pipette dans un ballon jaugé de 50 ml, 40 ml du filtrat obtenu de la façon indiquée ci-dessus. Ajouter 6,0 ml d'acide chlorhydrique 6,35 n.

Placer le ballon dans un bain-marie à 60° C pendant 15 min, le ballon étant immergé jusqu'à la naissance du col. Mélanger par rotation pendant les 5 premières min. au cours desquelles le contenu devra avoir atteint la température du bain. Refroidir à 20° C et compléter jusqu'à 50 ml avec de l'eau à 20° C ; mélanger et laisser reposer une heure à cette température.

7.2.12. — Polarisation après inversion

Déterminer le pouvoir rotatoire de la solution intervertie à $20 \pm 2^\circ \text{ C}$. (Lorsque la température du liquide dans le tube de polarisation diffère de plus de 0,2° de 20° C pendant la mesure, la correction de température indiquée au paragraphe 7.2.14 doit être appliquée.)

- 7.2.13. — Calculer la teneur en saccharose à l'aide des formules suivantes :

$$I. v = \frac{W}{100} (1,08 F + 1,55 P)$$

$$II. S = \frac{D - 5/4 I}{Q} \times \frac{V - v}{V} \times \frac{V}{L \times W} \%$$

où :

S = Teneur en saccharose

W = Poids de l'échantillon pesé exprimé en g

F = Pourcentage de matière grasse de l'échantillon

P = Pourcentage de protéines (N \times 6,38) de l'échantillon

V = Volume en ml auquel l'échantillon est dilué avant filtration

v = Correction exprimée en ml pour le volume du précipité de défécation

D = Lecture polarimétrique directe (polarisation avant inversion)

I = Lecture polarimétrique après inversion

L = Longueur en dm du tube du polarimètre

Q = Facteur d'inversion dont les valeurs sont indiquées sous 7.2.14.

Remarques

- a. En pesant exactement 40,00 g de lait concentré sucré et en utilisant un polarimètre à lumière du sodium, à échelle en degrés d'angle et un tube de polarimètre de 2 dm de longueur à 20,0° C \pm 0,1° C, la teneur en saccharose des laits concentrés sucrés normaux (C = 9, voir 7.2.14) peut être calculée à l'aide de la formule suivante :

$$S = (D - 5/4 I) (2,833 - 0,00612 F - 0,00878 P)$$

Si la mesure de la polarisation après inversion est effectuée à une température autre que 20° C, les chiffres obtenus devront être multipliés par :

$$1 + 0,0037 (T - 20)$$

- b. Si le pourcentage en matière grasse (F) et le pourcentage en matière sèche (G) de l'échantillon sont connus, la teneur en saccharose peut être calculée sans le pourcentage en protéines. Si la prise d'essai est 40,00 g et si le tube de polarimètre est d'une longueur de 2 dm la formule est :

$$S = \frac{D - 5/4 I}{Q} (2,776 - 0,0025 F - 0,003 G) - 2,60$$

7.2.14. — Valeur du facteur d'inversion Q

Les formules suivantes donnent les valeurs précises de Q pour diverses sources de lumière avec des corrections, le cas échéant, pour la concentration et la température.

Lumière du sodium et polarimètre à échelle en degrés d'angle :

$$Q = 0,8825 + 0,0006 (C - 9) - 0,0033 (T - 20)$$

Lumière verte du mercure et polarimètre à échelle en degrés d'angle :

$$Q = 1,0392 + 0,0007 (C - 9) - 0,0039 (T - 20)$$

Lumière blanche avec écran au bichromate et saccharimètre avec échelle saccharimétrique internationale :

$$Q = 2,549 + 0,0017 (C - 9) - 0,0095 (T - 20)$$

Dans les formules précédentes :

C = Pourcentage des sucres totaux dans la solution intervertie, d'après la lecture polarimétrique

T = Température de la solution intervertie lors de la lecture au polarimètre.

Remarque 1

Le pourcentage des sucres totaux C dans la solution intervertie peut être calculé à partir de la lecture directe et de la variation après inversion selon la méthode habituelle, en utilisant les valeurs usuelles de rotation spécifique du saccharose, du lactose et du saccharose interverti.

La correction 0,0006 (C - 9) etc. n'est exacte que lorsque C est environ 9 ; pour du lait concentré normal cette correction peut être négligée, C étant alors voisin de 9.

Remarque 2

Les écarts par rapport à 20° C de la température n'influencent que faiblement la lecture de la polarisation directe. Par contre des écarts de plus de 0,2° C lors de la lecture de polarisation après inversion nécessitent une correction. La correction - 0,0033 (T - 20), etc. n'est exacte que pour des températures comprises entre 18° C et 22° C.

8. — Examen microbiologique (*)

9. — Teneur en protéines

Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau d'une pureté au moins égale à celle de l'eau distillée.

Sulfate de potassium (K_2SO_4)

Sulfate de cuivre ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)

Acide sulfurique concentré : 96 % (m/m) H_2SO_4

Solution d'hydroxyde de sodium : dissoudre 500 g d'hydroxyde de sodium (NaOH) dans 1.000 ml d'eau.

(*) Cette méthode fera l'objet d'un complément aux présentes méthodes d'analyse.

Solution d'acide borique : dissoudre 40 g d'acide borique (H_3BO_3) dans 1.000 ml d'eau.

Indicateur : dissoudre 2 g de rouge de méthyle et 1 g de bleu de méthylène dans 1.000 ml d'éthanol 96 % (v/v).

Acide chlorhydrique (HCl) 0,1 n.

Appareils et matières auxiliaires

Balance analytique.

Ballon Kjeldahl de 500 ml de capacité.

Appareil pour la minéralisation Kjeldahl et pour la distillation.

Perles de verre.

9.1. — Essai à blanc : Effectuer un essai à blanc en appliquant le mode opératoire d'après 9.2. à l'exclusion de l'alinéa 9.2.2.

9.2. — Mode opératoire

9.2.1. — Introduire successivement dans le ballon Kjeldahl quelques perles de verre, 5 g de sulfate de potassium et 1 g de sulfate de cuivre.

9.2.2. — Peser dans le ballon Kjeldahl à 1 mg près, soit directement soit par différence, ca. 2 g de l'échantillon.

9.2.3. — Ajouter 20 ml d'acide sulfurique 98,3 % et mélanger.

9.2.4. — Chauffer soigneusement jusqu'à ce qu'il ne se forme plus de mousse.

9.2.5. — Chauffer plus énergiquement jusqu'à ce que le liquide devienne limpide.

9.2.6. — Poursuivre le chauffage pendant 90 min.

9.2.7. — Laisser refroidir jusqu'à la température ambiante et ajouter 150 ml d'eau. Refroidir à nouveau jusqu'à la température ambiante.

9.2.8. — Procéder à la distillation avec l'appareil usuel. Employer 80 ml de la solution d'hydroxyde de sodium. Recueillir le distillat dans 50 ml de la solution d'acide borique additionné de 4 gouttes de l'indicateur.

9.2.9. — Titrer le distillat avec l'acide chlorhydrique 0,1 n.

9.2.10. — Calculer la teneur en protéines par la formule :

$$\frac{1,40 \times 6,38 \times (V_1 - V_0) t}{S}$$

où :

t = normalité de l'acide chlorhydrique

V_1 = volume d'acide chlorhydrique en ml utilisé au cours du dosage (9.2.9.)

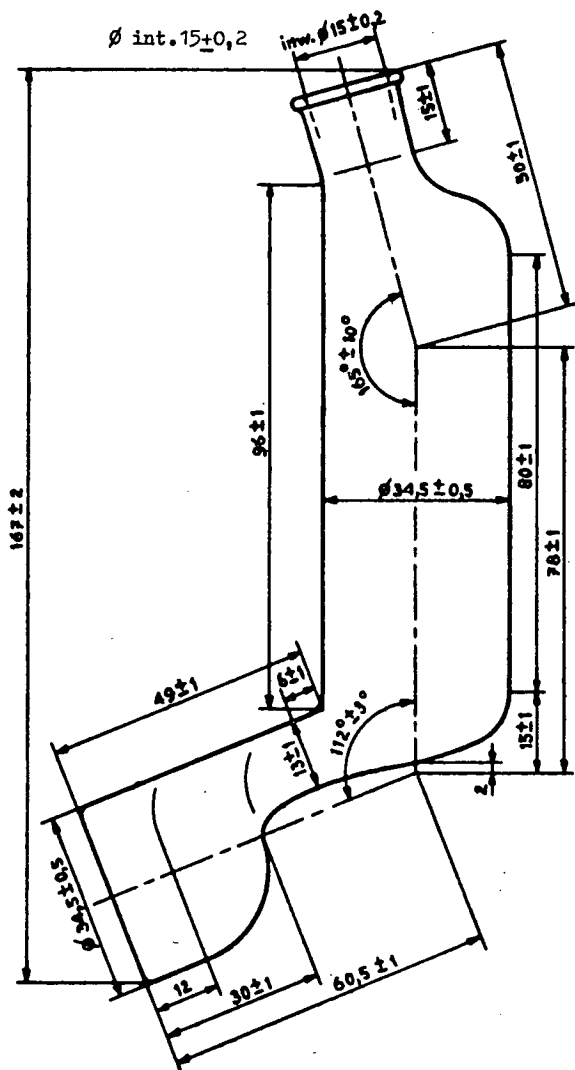
V_0 = volume d'acide chlorhydrique en ml utilisé pour l'essai à blanc (9.1.)

S = masse, en grammes, de la prise d'essai utilisée.

Mesures en mm
Maten in mm

1650

Tube à extraction suivant Mojonnier
conicité intérieure du col 1:10
Extractiebuis volgens Mojonnier
hals inw. conisch 1:10



inhoud van het voetje $21,5 \pm 0,5$ ml
glasdikte $1,25 \pm 0,25$ mm
contenu du pied $21,5 \pm 0,5$ ml
épaisseur du verre $1,25 \pm 0,25$ mm