

La dissolution intégrale du lait entier au moyen de solvants mixtes. Partie 1, Etude du mélange dissolvant: eau - hydroxyde de sodium - n-butylamine

Autor(en): **Bosset, J.O. / Blanc, B. / Plattner, E.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **68 (1977)**

Heft 2

PDF erstellt am: **13.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982227>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

La dissolution intégrale du lait entier au moyen de solvants mixtes

I. Etude du mélange dissolvant: eau — hydroxyde de sodium — n-butylamine*

J. O. Bosset, B. Blanc et E. Plattner

Station fédérale de recherches laitières, Liebefeld-Berne et
Institut de génie chimique de l'Ecole polytechnique fédérale de Lausanne

Introduction

De par sa teneur en caséines et en lipides, le lait se présente comme une double suspension colloïdale. Analytiquement parlant, la turbidité de ce milieu — même à de très grandes dilutions — est telle qu'elle rend impossible tout dosage photométrique direct des composants du lait. Dans certains cas, il est possible d'éliminer les constituants coloïdaux gênants en recourant à une technique de séparation adéquate (précipitation, extraction, centrifugation, filtration, dialyse) ou à une digestion, mais de telles opérations sont manuellement longues et fastidieuses et requièrent un équipement coûteux et délicat pour l'analyse automatique. La dissolution complète du lait est une autre possibilité très générale de préparation, qui se révèle parfois plus avantageuse, parce que rapide, aisée, quantitative et simple à automatiser. Le présent travail étudie à cette fin un nouveau dissolvant, à savoir le système eau — hydroxyde de sodium — n-butylamine.

La dissolution du lait et sa mesure

Le développement d'une méthode de dissolution du lait nécessite la mesure de la turbidité de ce milieu après adjonction des différents réactifs utilisés. La mesure de cette turbidité peut s'effectuer (1—3):

— par néphélométrie, en mesurant la lumière diffusée:

$$(1) \quad \frac{I_d}{I_0} = \frac{9 \pi^2 N v^2}{2 R^2 \lambda^4} \left(\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right)^2 \cdot (1 + \cos^2 \Theta)$$

— par opacimétrie, en mesurant la lumière absorbée:

$$(2) \quad E = \ln \frac{I_0}{I_t} = 24 \pi^3 l \left(\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right)^2 \cdot \frac{N v^2}{\lambda^4}$$

* Extrait d'une dissertation élaborée sous la direction des Professeurs *B. Blanc* et *E. Plattner*.

où:

- I_d = intensité de la lumière diffusée,
- I_o = intensité de la lumière incidente,
- I_t = intensité de la lumière transmise,
- E = extinction ou absorption de la lumière,
- N = nombre de particules diffusantes*,
- $v(r)$ = volume (rayon) des particules diffusantes (sphériques),
- n = indice de réfraction relatif (réel ou complexe) des particules diffusantes,
- λ = longueur d'onde utilisée (lumière non polarisée),
- Θ = angle sous lequel on observe les particules diffusantes,
- R = distance à laquelle on observe les particules diffusantes,
- l = chemin optique dans le milieu diffusant.

Les conditions de validité de ces deux relations fondamentales sont assez restrictives:

- Le colloïde doit être homogène et stable (pas de sédimentation, ni d'écémage).
- L'extinction ne doit pas être trop importante (domaine de linéarité de la loi de Lambert-Beer).
- Les particules doivent être sphériques, de diamètres très voisins et très petits par rapport à la longueur d'onde utilisée ($2r < \sim 0,05 \lambda$).
- Leur indice de réfraction relatif n doit être réel (milieu et particules non absorbants).

Il est évident que de telles conditions de validité ne sont nullement remplies pour le lait entier. Etant toutefois intéressé à déterminer l'optimum de dissolution de ce dernier ($N \rightarrow 0$ et/ou $v \rightarrow 0$ et/ou $n \rightarrow 1$), on est en droit d'utiliser ces 2 relations pour comparer la qualité des dissolutions obtenues dans diverses conditions de travail (concentration des réactifs, temps et température de réaction, etc.).

Méthodes d'investigation, modes opératoires et équipements

Dans le présent travail, la dissolution du lait a été suivie parallèlement par trois méthodes différentes: visuelle, photographique et photométrique.

Méthode visuelle (néphélogéométrie/opacimétrie)

Cette méthode, essentiellement comparative, permet d'apprécier qualitativement l'influence d'un facteur donné (température, concentration d'un réactif, etc.) sur la dissolution du lait. On peut estimer «de visu» la lumière diffusée (néphélogéométrie) ou la lumière absorbée (opacimétrie). Dans le premier cas, on compare une série de suspensions sous divers angles d'éclairage. Dans le second, on évalue la netteté d'un objet observé à travers la suspension (par exemple une croix noire, tracée sur un papier blanc, regardée dans l'axe de l'éprouvette). Simple, rapide, mais subjective, cette méthode donne une vue globale de la dissolution.

* Par unité de volume dans la relation (2).

Méthode photographique (néphélogométrie)*

Basée sur le même principe que l'estimation néphélogométrique visuelle, cette méthode — à nouveau comparative — permet de conserver par le film l'information expérimentale. L'évolution d'une suspension donnée au cours du temps est en revanche un peu plus difficile à suivre. La méthode est simple, qualitative et semi-quantitative. On procède de la manière suivante: les mélanges (lait + dissolvants) à examiner sont effectués dans une série d'éprouvettes qui sont aussitôt placées dans un bain-marie thermostaté, muni de fenêtres. Les photographies sont prises à travers ces dernières ($\Theta = 45^\circ$; $R \approx 1,5$ m), à divers moments de la dissolution ou de la reprecipitation des composants colloïdaux du lait. Les éprouvettes sont éclairées par derrière sous un angle de 45° (lampe à iode-quartz de 1 500 W) sur un fond de carton noir. Les films (Kodak Ektapan, 100 ASA, format 4/5 inch) sont révélés, puis tirés par contact.

Méthode photométrique (opacimétrie)

Recourant à une cellule photoélectrique, cette méthode permet de quantifier la turbidité et d'enregistrer sa mesure tout au long de la dissolution. La comparaison à un instant donné d'échantillons différents est en revanche un peu moins aisée à effectuer avec cette méthode qu'avec la précédente. Pour le travail envisagé, la méthode photométrique a pourtant comme défaut principal de n'être utilisable — théoriquement du moins — qu'au voisinage même de l'optimum de dissolution recherché (cf. ci-dessus les conditions de validité). Dans la présente étude, les extinctions des suspensions ont été mesurées au moyen d'un spectrophotomètre à double faisceau (Perkin-Elmer 124, équipé d'une paire de cellules Hellma OS/110/10 mm). Les résultats obtenus avec la méthode photométrique seront donnés sous la forme de valeurs d'extinction E , mesurées à 20°C et 500 nm, après un temps de dissolution t à une température T .

Choix des réactifs (dissolvants)

La dissolution intégrale du lait proposée dans ce travail est basée sur une amélioration simultanée de la solubilité de tous les composants responsables de la turbidité de ce milieu. On l'obtient par l'emploi conjugué d'un dissolvant des caséines et d'un dissolvant des lipides, ces deux réactifs devant être compatibles (solvant mixte).

Comme dissolvant des caséines, on peut envisager l'emploi d'un complexant (par ex. EDTA), d'un dénaturant (par ex. urée concentrée) ou d'une base (NaOH, KOH, NH_4OH , etc.). Jusqu'à un certain degré d'alcalinité et pour autant que le constituant du lait à doser le supporte sans dommage, les bases fortes sont intéressantes parce qu'elles agissent vraisemblablement par (4, 5):

* Les résultats obtenus avec cette méthode ne se prêtant guère à une publication, on n'en donnera qu'un exemple (cf. la figure 6).

- rupture des ponts disulfures, hydrogènes et autres liaisons hydrophiles responsables du maintien des structures secondaires, tertiaires et quaternaires des protéines;
- démantèlement de ces structures sous l'effet des forces de répulsion électrostatiques dues aux charges négatives des protéines (phosphates, carboxylates, tyrosinates);
- déplacement, selon la loi d'action de masse, des cations alcalinoterreux (Ca^{2+} et Mg^{2+}) responsables de la cohésion des diverses sous-unités constituant les caséines, ce qui entraîne une augmentation de leur solubilité;
- augmentation du degré d'hydratation des chaînes polypeptidiques;
- hydrolyse partielle de ces chaînes (des groupes phosphoriques notamment).

Tous ces mécanismes, ainsi que leurs interactions (synergie), aboutissent à la mise en solution de la fraction des caséines naturellement insoluble dans le lait. De surcroît, la partie protéinique de la membrane des globules gras est attaquée, ce qui facilitera l'étape ultérieure de dissolution des lipides proprement dits.

Comme dissolvant de la matière grasse*, il est proposé de recourir à un solvant organique amphiphile, c'est-à-dire miscible en toutes (ou dans de larges) proportions aussi bien avec les phases typiquement organiques qu'avec celles spécifiquement aqueuses. Un tel solvant doit donc présenter une structure hétéropolaire qui n'est pas sans rappeler celle des composants de la membrane des globules gras. De par ses propriétés, il assure la miscibilité réciproque des composants lipophiles et hydrophiles, c'est-à-dire la dissolution complète et rapide des graisses sans former de phases séparées avec les autres composants du lait. Un tel dissolvant agit vraisemblablement par:

- démantèlement des complexes protéines-lipides qui constituent la membrane protectrice des globules gras;
- action détersive sur la matière grasse proprement dite (mono-, di-, triglycérides acides gras, etc.) et diminution de la tension superficielle du milieu;
- hydrolyse et saponification des composants lipidiques susmentionnés.

Parmi les divers solvants organiques présentant une polarité comprise entre celle des solvants pratiquement apolaires — tels les hydrocarbures — et celle des solvants très polaires — tel le milieu aqueux —, il a été retenu pour le présent travail une amine aliphatique, la n-butylamine**. Le tétrahydrofurane (cf. partie II) donne également satisfaction. Quelques solvants mixtes analogues ont déjà été décrits, notamment les systèmes eau-acide acétique (6) et eau-méthanol-formaldéhyde-triton-X-100*** (7). On peut reprocher à ces deux systèmes leur faible pouvoir dissolvant et au second en particulier la lenteur de la dissolution obtenue.

* Dans une certaine mesure, le solvant organique peut également faciliter la dissolution des parties peu polaires des caséines.

** Purum, Fluka, art. no 19 490.

*** Le triton-X-100 est un détergent non ionique.

Résultats expérimentaux et discussion

En choisissant une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium pour dissoudre les caséines et la n-butylamine (= BTA) pour dissoudre la matière grasse du lait, on définit un système quaternaire: «lait — eau — hydroxyde de sodium — n-butylamine». Vu son caractère complexe, labile et thermosensible, ce système a été décomposé en sous-systèmes plus simples à étudier, à savoir:

- eau — hydroxyde de sodium — n-butylamine, pour déterminer le diagramme de solubilité (réciproque) des composants du solvant mixte adopté;
- lait écrémé — eau — hydroxyde de sodium, pour déterminer l'influence de l'hydroxyde de sodium sur le comportement des caséines en l'absence de n-butylamine;
- lait écrémé — eau — n-butylamine, pour déterminer l'influence de la n-butylamine sur le comportement des caséines en l'absence d'hydroxyde de sodium;
- lait écrémé — eau — hydroxyde de sodium — n-butylamine, pour déterminer l'influence de la n-butylamine sur le comportement des caséines en présence d'hydroxyde de sodium;
- lait entier — eau — hydroxyde de sodium — n-butylamine, pour déterminer l'influence de la n-butylamine sur le comportement essentiellement de la matière grasse.

a) *Etude du sous-système eau — hydroxyde de sodium — n-butylamine*

Il importe de connaître le diagramme ternaire de solubilité du solvant mixte utilisé, à savoir le système eau — hydroxyde de sodium — n-butylamine. Ayant déjà fait l'objet de quelques travaux (8, 9), ce système n'a pas été redéterminé expérimentalement. La figure 1 en présente la partie qui intéresse la dissolution du lait. Les points représentatifs A, B, C, etc. permettent de situer les divers mélanges dissolvants testés au cours de la présente étude. L'un d'eux, le mélange repéré par le point H, a déjà été exploité à des fins analytiques (10).

b) *Etude du sous-système lait écrémé — eau — hydroxyde de sodium*

L'étude de la dissolution des caséines ($\hat{=}$ lait écrémé) par la soude caustique seule a été effectuée dans les conditions suivantes:

- solution aqueuse d'hydroxyde de sodium: 1 volume
dont la concentration C_{NaOH} croît de 0 à 1 mol/l;
 - n-butylamine: néant;
 - lait écrémé: 1 volume;
 - T: 20°C;
 - t: 7 minutes environ.
- (les points représentatifs de ces mélanges sont situés sur le segment de droite AB de la figure 1)

On constate (cf. figure 2) trois comportements des caséines différents:

- $C_{\text{NaOH}} < 0,1$ mol/l: la dissolution est insuffisante;
- $0,1 < C_{\text{NaOH}} < 0,4$ mol/l: la dissolution est «optimale»;

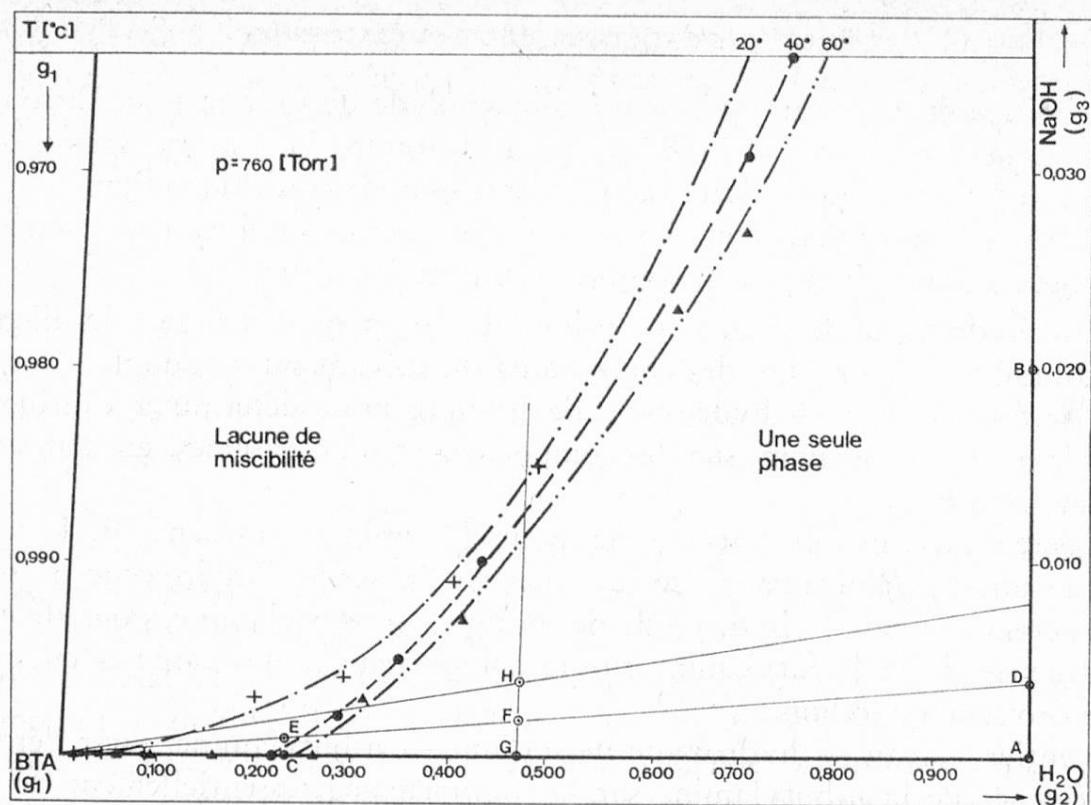


Figure 1. Diagramme de solubilité du système eau — hydroxyde de sodium — n-butylamine: domaine intéressant la dissolution du lait (isothermes de 20°C, 40°C et 60°C)

Légende g_1 = fraction pondérale de n-butylamine
 g_2 = fraction pondérale d'eau ou de lait
 g_3 = fraction pondérale d'hydroxyde de sodium

— $C_{\text{NaOH}} > 0,4$ mol/l: après une phase de dissolution, il y a progressivement formation de gels visqueux, jaunâtres et opaques.

Le domaine de pH correspondant à cette dissolution «optimale» est compris entre 11,2 et 12,8. Cette constatation est confirmée par plusieurs auteurs (11—13) qui signalent, pour ces valeurs de pH, des poids moléculaires d' α et de K-caséines très faibles par suite de la réduction de ces protéines en sous-unités beaucoup plus petites. On constate pourtant que, même à ces valeurs de pH, la dissolution du lait écrémé n'est pas encore satisfaisante: l'extinction résiduelle est voisine de 0,4. En pratique, il faudra donc diluer le lait d'un facteur 10 au moins.

L'observation visuelle ainsi que les photographies révèlent le caractère «dynamique» du phénomène de dissolution. En effet, une élévation de la température favorise tout d'abord la dissolution du lait (surtout si la teneur en hydroxyde de sodium est faible). Après un certain temps cependant, on observe la formation de produits colorés résultant de la décomposition du lactose et des protéines (surtout si la teneur en hydroxyde de sodium est forte). L'optimum de dissolution observé se déplace donc au cours du temps vers de plus faibles teneurs en hydroxyde de sodium.

c) *Etude du sous-système lait écrémé — eau — n-butylamine*

L'influence de la n-butylamine (en l'absence d'hydroxyde de sodium) sur la solubilité des caséines ($\hat{=}$ lait écrémé) a été étudiée dans les conditions suivantes:

- solution aqueuse d'hydroxyde de sodium: néant; (les points représentatifs de ces mélanges sont situés sur le segment de droite AC de la figure 1)
- remplacée par 1 volume* d'eau distillée;
- n-butylamine: croît de 0 à 9 volumes*
- lait écrémé: 1 volume*;
- T: 20°C;
- t: 2; 7 et 90 minutes.

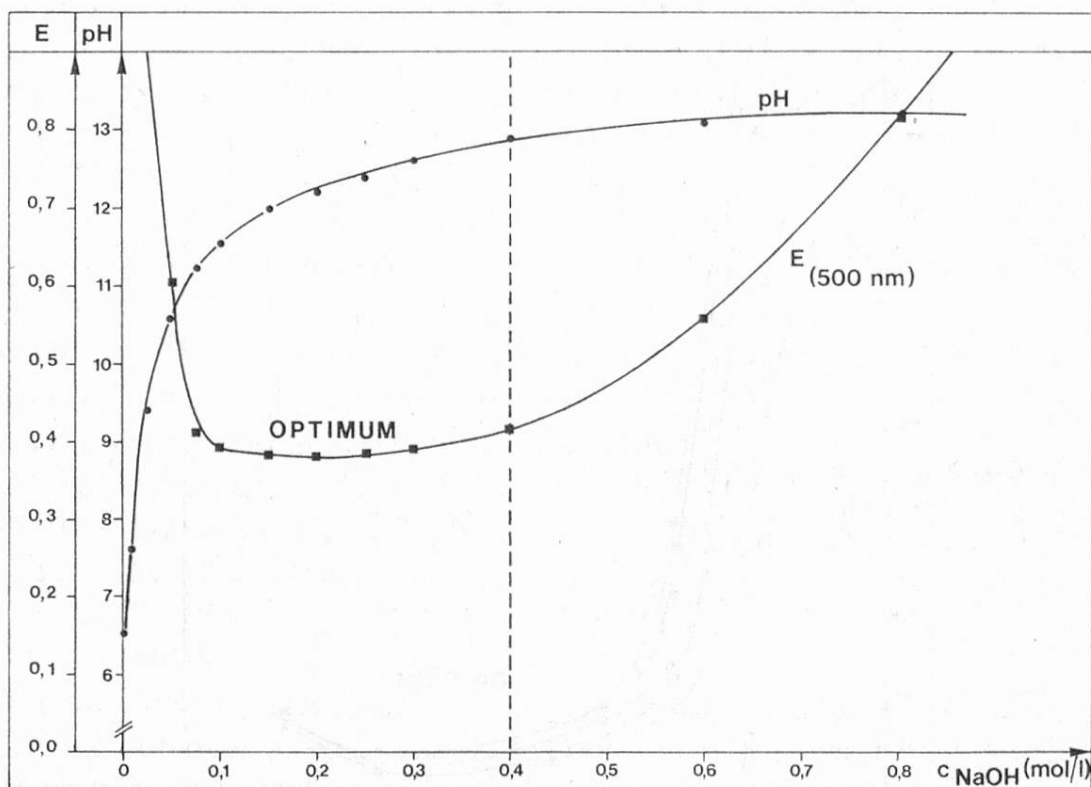


Figure 2. Influence de la concentration de la soude caustique sur la dissolution d'un lait écrémé

Légende —■—■—: E à 500 nm après 7 min à 20°C
 —●—●—: pH après 5 min à 20°C

L'examen des résultats obtenus (cf. figure 3: graphes tracés en traits pleins) amène aux conclusions suivantes:

- Vu son caractère amphiphile et fortement alcalin ($pK = 10,77$ à 20°C), la n-butylamine — prévue initialement pour dissoudre les lipides du lait — se révèle être simultanément un excellent dissolvant des caséines, meilleur même que la soude aux concentrations utilisées. L'optimum de dissolution

* Pour simplifier, les volumes indiqués sur les figures sont exprimés en ml.

est observé à des concentrations de n-butylamine $C_{BTA} > 35\%$ (p/p), ce qui correspond à des volumes $V_{BTA} > 1,5$.

- Une telle dissolution est dynamique: elle s'améliore lorsque l'on accroît la durée de la réaction.
- Comme précédemment, le lait écrémé engagé est trop concentré pour que l'on puisse négliger la turbidité résiduelle.

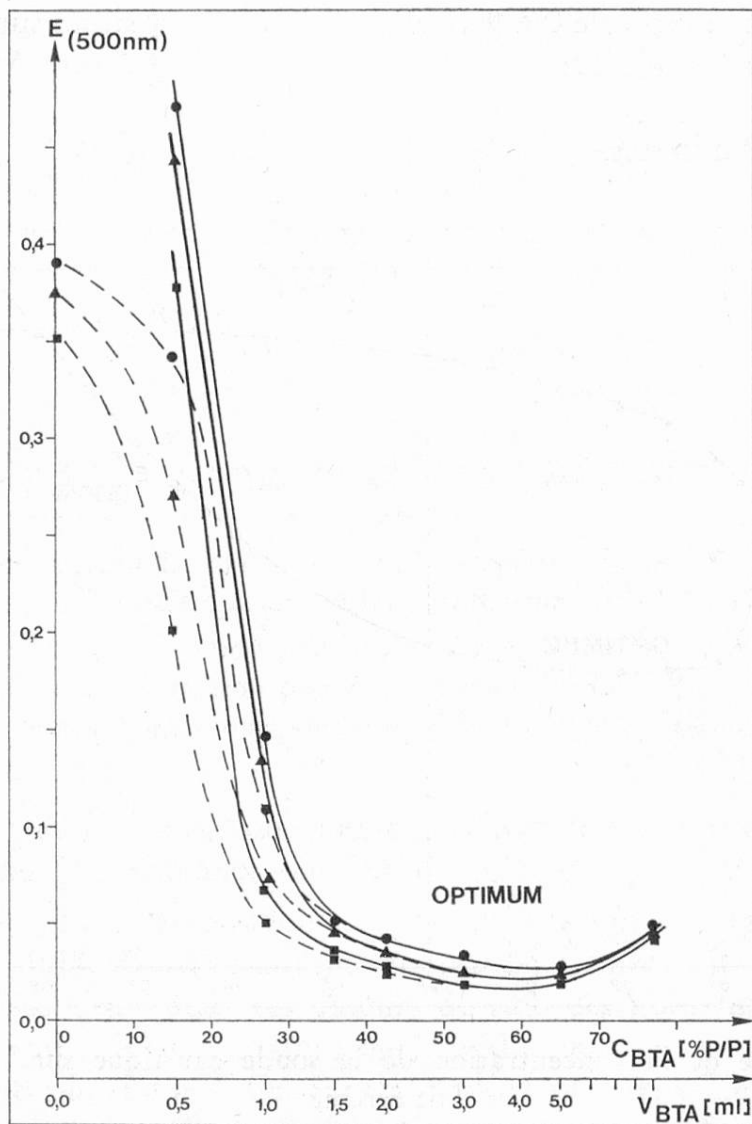


Figure 3. Influence de la concentration de la n-butylamine sur la dissolution d'un lait écrémé:
a) en l'absence de NaOH (traits continus), b) en présence de NaOH (traitillés)

Légende —●—●—: E à 500 nm après 2 min à 20°C
—▲—▲—: E à 500 nm après 7 min à 20°C
—■—■—: E à 500 nm après 90 min à 20°C

d) *Etude du sous-système lait écrémé — eau — hydroxyde de sodium — n-butylamine*

L'influence de la n-butylamine (en présence d'hydroxyde de sodium) sur la solubilité des caséines ($\hat{=}$ lait écrémé) a été étudiée dans les conditions suivantes:

- solution aqueuse d'hydroxyde de sodium: 1 volume à 0,2 mol/l;
 - n-butylamine: croît de 0 à 9 volumes;
 - lait écrémé: 1 volume;
 - T: 20°C;
 - t: 2; 7 et 90 minutes.
- (les points représentatifs de ces mélanges sont situés sur le segment DE de la figure 1)

Malgré l'adjonction d'hydroxyde de sodium, les résultats obtenus (cf. figure 3: graphes en traitillés) sont pratiquement les mêmes que précédemment (cf. sous-système c) dès que $C_{BTA} > 42\%$ (p/p), ce qui correspond à $V_{BTA} > 2$ volumes environ. Une telle observation confirme donc le pouvoir hautement dissolvant de la n-butylamine pour les caséines, au point même que l'on pourrait se passer de soude caustique. Pour les essais ultérieurs, on maintiendra néanmoins une certaine teneur en hydroxyde de sodium (à savoir 1 volume d'une solution 0,2 mol/l au minimum) afin de garantir au milieu une alcalinité suffisante pour le développement des réactions colorimétriques envisagées (cf. exemples d'applications (10, 14)).

e) *Etude du sous-système lait entier — eau — hydroxyde de sodium — n-butylamine*

L'étude de la dissolution des caséines et des lipides ($\hat{=}$ lait entier) dans le dissolvant proposé a été réalisée dans les conditions suivantes:

- solution aqueuse d'hydroxyde de sodium: 1 volume à 0,2 mol/l;
 - n-butylamine: croît de 0 à 9 volumes;
 - lait entier: 1 volume;
 - T: 20°C et 60°C;
 - t: 3 minutes.
- (points représentatifs sur le même segment DE de la figure 1)

En comparant, à températures de dissolution égales ($T = 20^\circ\text{C}$), les extinctions obtenues avec le lait entier (cf. figure 4) avec celles obtenues précédemment avec le lait écrémé (cf. figure 3: graphes en traitillés), on note un déplacement très important des graphes vers des teneurs plus élevées en n-butylamine. Ce décalage, dû à la présence de lipides dans le lait entier, peut néanmoins être réduit en chauffant le mélange (cf. figure 4).

L'examen de la figure 4 amène donc aux conclusions suivantes:

- La soude n'a pas grand effet sur la dissolution des lipides du lait (elle accélère tout au plus l'hydrolyse des triglycérides).
- Dans les conditions de température et de temps de réaction envisagées, l'accroissement du volume (V_{BTA}) ou de la concentration (C_{BTA}) de la n-butylamine améliore la dissolution de façon continue, mais non régulière: les premières portions sont les plus efficaces.
- La turbidité résiduelle — pratiquement la même que celle mesurée précédemment avec le lait écrémé ($E \approx 0,02$) — ne peut pas encore être négligée; on peut cependant la réduire en diminuant la quantité de lait engagée (par exemple par dilution).

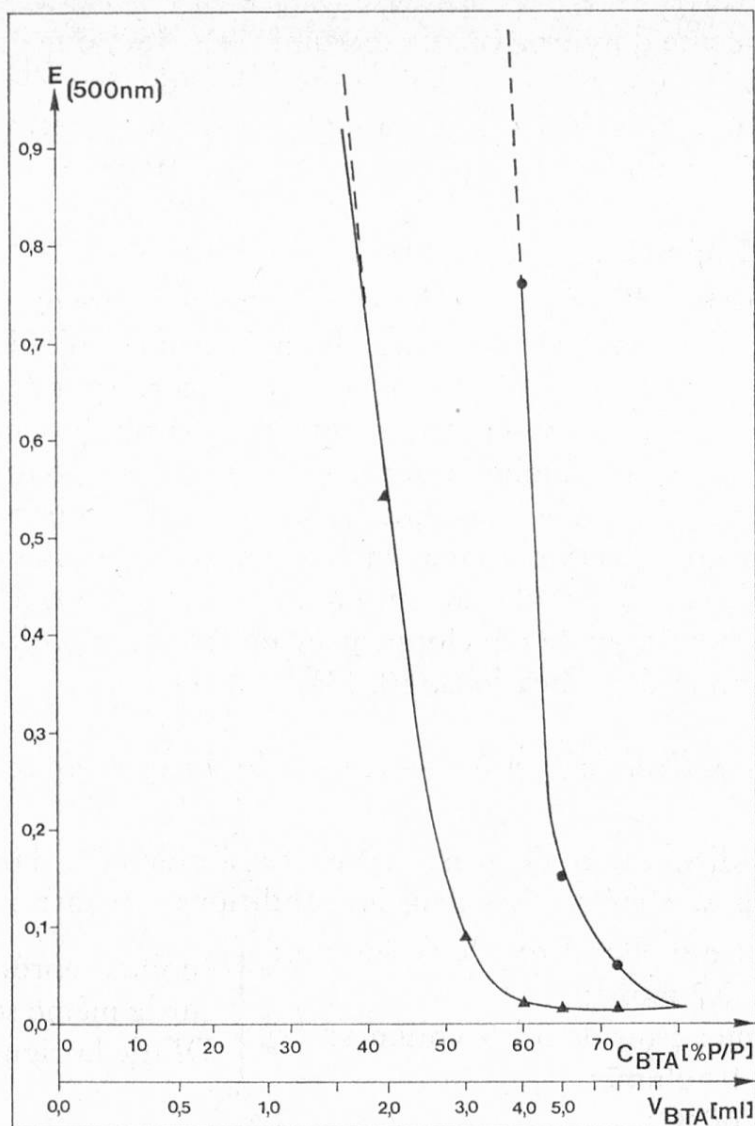


Figure 4. Influence de la concentration de la n-butylamine sur la dissolution d'un lait entier, en présence de NaOH

Légende ●—● : E à 500 nm après 3 min à 20°C
 ▲—▲ : E à 500 nm après 3 min à 60°C

— La dissolution du lait entier dépend étroitement de la durée t et de la température T de la réaction.

Ce dernier paramètre est même d'une telle importance qu'il a fait l'objet d'un essai complémentaire dans les conditions suivantes:

- solution aqueuse d'hydroxyde de sodium: 1 volume à 0,2 mol/l;
 - n-butylamine: 3 volumes;
 - lait entier: 1 volume;
 - T : 60°C;
 - t : 0,5; 1; 2; 3; 4 et 5 minutes.
- } (point représentatif F de la figure 1)

La figure 5 montre les résultats obtenus (forte décroissance de $E_{500\text{ nm}}$ en fonction du temps de réaction t à $T = 60^\circ\text{C}$).

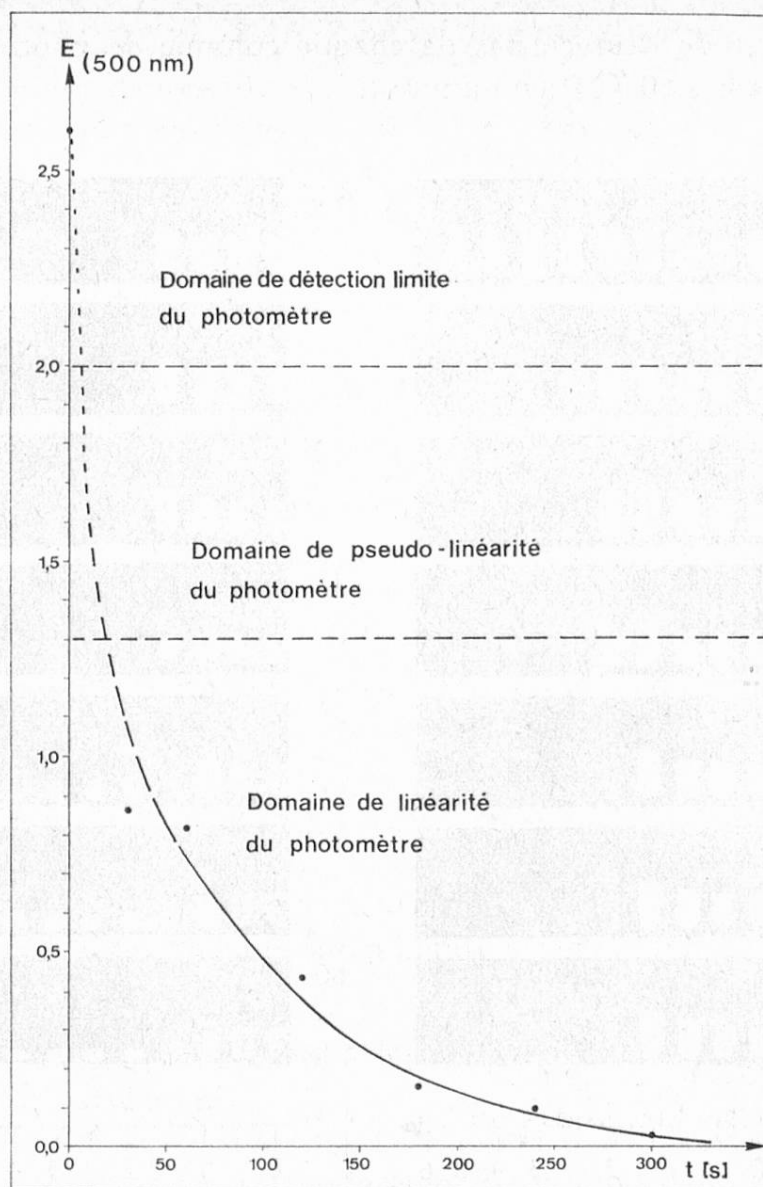


Figure 5. Influence de la durée t du chauffage (à $T = 60^{\circ}\text{C}$) sur la dissolution d'un lait entier

Si l'on poursuit l'essai plus longtemps ($t > 15$ min), on assiste progressivement à la re-précipitation des protéines (cf. figure 6). Ce phénomène, déjà observé lors d'essais précédents, se produit également à des températures plus basses, mais plus lentement. Un tel comportement révèle donc la compétition de deux processus opposés, mais de cinétiques très différentes: la dissolution des lipides et des caséines d'une part, leur re-précipitation d'autre part. En résumé, *il existe — théoriquement du moins — un optimum qui est fonction de la température et du temps de réaction d'une part, de la teneur en *n*-butylamine et de celle en soude d'autre part.*

Ces diverses conclusions sont encore étayées par l'examen des résultats photographiques que présente la figure 6. On observe de gauche à droite sur chaque cliché l'influence de la *n*-butylamine engagée en quantité croissante

(V_{BTA} en ml) et de haut en bas de chaque colonne de photos, l'influence du temps de réaction à 60°C (t en minutes).

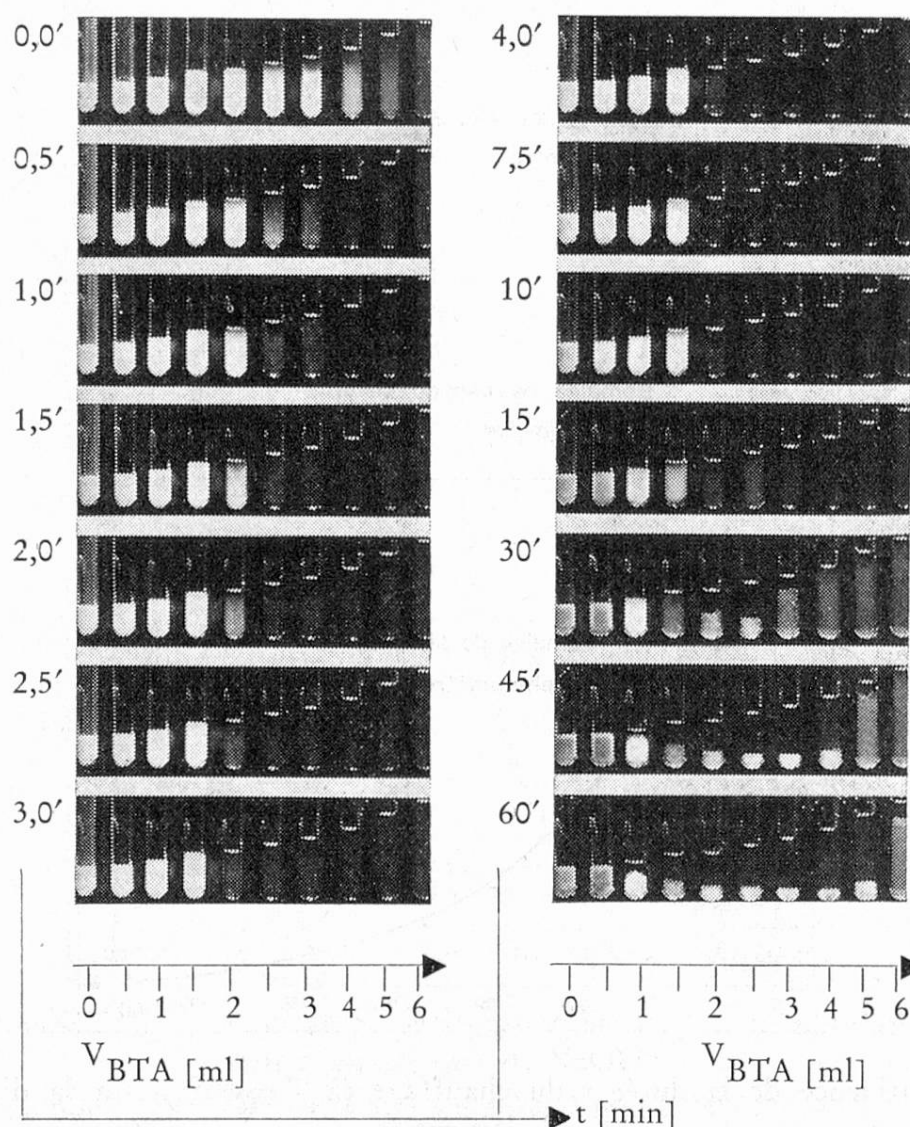


Figure 6. Aspect de la dissolution d'un lait entier (1 ml) dans un mélange de NaOH 0,2 mol/l (1 ml) et de n-butylamine pure (V_{BTA} en ml), en fonction du temps de chauffage t (en min) à 60°C .

Conclusion

Il ressort de l'étude des divers sous-systèmes envisagés que le mélange proposé «eau — hydroxyde de sodium — n-butylamine» est un excellent dissolvant, surtout à chaud, tant pour le lait écrémé que pour le lait entier.

En ce qui concerne chacun des composants de ce mélange et chacun des paramètres étudiés, on en tire les conclusions suivantes:

— La soude caustique, bien qu'elle ne soit pas indispensable, contribue à la dissolution des caséines, en tous cas en début de réaction; elle est nécessaire aux dosages photométriques envisagés (10, 14); un excès d'hydroxyde de so-

dium conduit à la démixtion du mélange (cf. figure 1) et favorise d'autre part la dégradation des composants du lait.

- La n-butylamine se révèle être un puissant dissolvant aussi bien pour les caséines que pour les lipides du lait, à condition d'être suffisamment concentrée dans le mélange final ($C_{\text{BTA}} > 50\%$ p/p). L'engagement de quantités trop importantes de ce solvant entraîne en revanche une dilution inutile du lait, ce qui se traduit — lors d'une application à un dosage photométrique — par une perte de sensibilité du signal obtenu et par une augmentation du prix de revient de l'analyse. L'utilisation de ce solvant à des concentrations élevées pose en outre certains problèmes de résistance chimique et mécanique des matériaux utilisés lors de l'emploi d'analyseurs automatiques à flux continu (15).
- Si une courte élévation de la température active considérablement la dissolution de lait entier, un chauffage trop intensif et/ou trop prolongé provoque en revanche une reprecipitation des protéines et favorise en outre l'apparition de produits de dégradation colorés, généralement indésirables.

A défaut de pouvoir déterminer l'optimum théorique d'un tel système, il faut trouver un compromis. Le mode opératoire suivant en propose un qui a été testé avec succès:

- mélanger jusqu'à 0,1 ml* de lait avec 5 ml de *solvant mixte* (cf. alinéa suivant);
- chauffer et maintenir ce mélange pendant 2 à 3 min à 60°C;
- ramener rapidement le mélange à température ambiante.

Le *solvant mixte* utilisé se compose de:

- 2 volumes de NaOH (0 à 0,2 mol/l**);
 - 3 volumes de n-butylamine.
- (les points représentatifs de tels mélanges se situent sur le segment de droite GH de la figure 1)

Comme le laisse entendre l'introduction de ce travail, la dissolution est une opération préparatoire aux dosages photométriques directs de divers constituants du lait entier. Le mélange dissolvant eau — hydroxyde de sodium — n-butylamine proposé dans ce travail a déjà été appliqué avec succès au dosage photométrique des protéines totales du lait entier par la méthode dite «du biuret» (complexe violet Cu(II)-liaisons peptidiques) (10). Ce même dissolvant, sans le Cu(II) évidemment, permet aussi le dosage des protéines totales par la photométrie classique à 290 nm (absorption due aux restes d'acides aminés aromatiques) (14). D'autres applications analytiques sont actuellement à l'étude.

Remerciements

Les auteurs tiennent à exprimer toute leur gratitude à Monsieur G. J. Steiger pour ses précieuses remarques de rédaction ainsi que pour la correction du manuscrit.

* Pour limiter la turbidité résiduelle.

** A choisir en fonction de l'application analytique envisagée.

Résumé

Le présent travail a pour but l'étude systématique et la mise au point d'une nouvelle méthode de dissolution rapide et complète de tous les constituants colloïdaux responsables de la turbidité du lait. Le mélange de solvants ou «solvant mixte» proposé est constitué de 2 volumes d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium ($\leq 0,2$ mol/l) et de 3 volumes d'un solvant organique amphiphile, à savoir la *n*-butylamine. La composante alcaline aqueuse a pour fonction principale de dissoudre les caséines, la composante organique, celle de dissoudre les lipides sans formation de phases séparées. Pour les applications analytiques testées ou envisagées — notamment le dosage des protéines totales et des glucides du lait entier —, les essais ont montré que 5 ml d'un tel solvant mixte suffisent pour dissoudre 100 μ l au moins de lait, si ce mélange est maintenu 2 à 3 minutes à 60°C environ. De par son extrême simplicité, une telle méthode de dissolution convient tout particulièrement à l'analyse automatique, en continu ou en discontinu, puisqu'elle évite toute séparation préalable (filtration, centrifugation, dialyse, etc.).

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit umfaßt eine systematische Studie über die Auflösung der Milch und die Entwicklung einer Methode zur raschen und vollständigen Solubilisation aller kolloidalen Bestandteile, die für die Trübung der Milch verantwortlich sind. Die vorgeschlagene Lösungsmittelmischung besteht aus zwei Volumenteilen wässriger NaOH ($\leq 0,2$ mol/l) und drei Volumenteilen eines amphiphilen organischen Stoffes, d. h. *n*-Butylamin. Die wässrige alkalische Komponente dient hauptsächlich zur Auflösung der Caseine, die organische Komponente zur Auflösung der Lipide unter Vermeidung einer Phasentrennung. Im Hinblick auf analytische Anwendungen dieses Auflösungsverfahrens (z. B. die quantitative Bestimmung des Protein- und Zuckergehaltes in Vollmilch) wurde gefunden, daß 5 ml einer solchen Lösungsmittelmischung genügen, um mindestens 100 μ l Milch zu lösen, falls die Mischung während 2—3 Minuten bei etwa 60°C erwärmt wird. Wegen ihrer Einfachheit ist die vorgeschlagene Methode zur Auflösung der Milch speziell für diskontinuierlich oder kontinuierlich arbeitende Analysenautomaten geeignet, da keine aufwendige Trennungsoperationen (Filtrationen, Zentrifugationen, Dialysen usw.) notwendig sind.

Summary

The aim of this work was to study and set up a new method for the rapid and complete solubilisation of all the colloidal components responsible for the turbidity of milk. The proposed solvent mixture is made up of 2 volumes of aqueous sodium hydroxide ($\leq 0,2$ mol/l) and 3 volumes of an amphiphilic organic solvent, e. g. *n*-butylamine. The function of the aqueous alkaline component is to solubilise the caseins, the function of the organic solvent, to solubilise the lipids without formation of separate phases. As regards analytical applications (e. g. quantitative determinations of total proteins and carbohydrates in whole milk), it was shown that 5 ml of such a solvent mixture is sufficient to dissolve at least 100 μ l of milk, if the mixture is maintained for 2 to 3 minutes at about 60°C. Due to its extreme simplicity, such a method of dissolution is particularly suitable for discontinuous or continuous flow automatic analysers, since it avoids all preliminary separations (filtration, centrifugation, dialysis etc.).

Bibliographie

1. Kerker, M.: Scattering by a sphere. In: The scattering of light and other electromagnetic radiation, chap. 3, pp. 27—96. Academic Press, New York and London 1969.
2. Cadle, R. D.: General principles. In: Particle size: theory and industrial applications, chap. 2, pp. 51—153. Reinhold Publ. Comp., New York 1965.
3. Rodier, J.: Mesure de la turbidité. Dans: Analyse chimique et physico-chimique de l'eau, pp. 58—67. Dunod, Paris 1971.
4. Tumerman, L. and Webb, B. H.: Coagulation of milk and protein denaturation. In: Webb, B. H. and Johnson, A. H.: Fundamentals of dairy chemistry, chap. 11, pp. 506—589. Avi Publishing Company Inc., Westport 1965.
5. McMeekin, T. L. and Groves, M. L.: Physical equilibria in milk: Protein. In: Webb, B. H. and Johnson, A. H.: Fundamentals of dairy chemistry, chap. 9, pp. 374—402, Avi Publishing Company Inc., Westport 1965.
6. Nakai, S. and Anb Chi Le: Spectrophotometric determination of protein and fat in milk simultaneously. J. Dairy Sci. **53**, 276—278 (1970).
7. Zeidler, H., Tolle, A. und Heeschen, W.: Verbesserte Präparationstechnik zur elektronischen Bestimmung des Zellgehaltes in Milch. Milchwissenschaft **23**, 564—568 (1968).
8. Ishiguro, T. and Kametani, F.: Equilibria of the system of amine-water-caustic alkali. VII: Mutual solubility of butylamine-H₂O-NaOH system. J. Pharm. Soc. Japan **75**, 1196—1198 (1955).
9. Gaboriaud, R. et Brisset, J.-L.: Propriétés acido-basiques des mélanges d'eau et d'amines. I. Mélange d'eau et de n-butylamine. J. chim. phys. **67**, 1715—1725 (1970).
10. Bosset, J., Blanc, B. et Plattner, E.: Nouvelle méthode de dosage photométrique automatique des protéines dans le lait entier.
I. Bases théoriques et optimisation des principaux paramètres de la réaction. Anal. Chim. Acta **70**, 327—339 (1974).
II. Linéarité, sélectivité, spécificité. Anal. Chim. Acta **71**, 97—105 (1974).
III. Application à l'analyse en flux continu. Anal. Chim. Acta **75**, 343—354 (1975).
11. von Hippel, P. H. and Waugh, D. F.: Casein: Monomers and polymers. J. Am. Chem. Soc. **77**, 4311—4319 (1955).
12. Waugh, D. F. and von Hippel, P. H.: k-Casein and the stabilization of casein micelles. J. Am. Chem. Soc. **78**, 4576—4582 (1956).
13. Swaisgood, H. E. and Brunner, J. R.: Characteristics of kappa-casein in the presence of various dissociating agents. Biochem. Biophys. Res. Comm. **12**, 148—151 (1963).
14. Bosset, J. O., Blanc, B. et Plattner, E.: Le dosage des protéines du lait et de ses principaux dérivés: méthodes et appareillages tirés de la littérature parue entre 1964 et 1974 (revue analytique). Trav. chim. aliment. hyg. **67**, 226—261 (1976).
15. Bosset, J., Blanc, B. et Plattner, E.: Etude de la stabilité chimique et mécanique des tubes de pompes Technicon lors de l'emploi de solvants organiques très agressifs (amines et éthers). Anal. Chim. Acta **68**, 331—337 (1973).

Prof. Dr E. Plattner
Institut de génie chimique
de l'Ecole polytechnique fédérale
CH-1025 St-Sulpice/Lausanne

Dr Ing.-chim. J. O. Bosset
Prof. Dr B. Blanc
Station fédérale de recherches laitières
CH-3097 Liebefeld-Berne