

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DES METHODES  
DE RECHERCHES DU DEXTROSE  
DANS LES LAITS SECS  
ET LES MELANGES A BASE DE LAIT  
(pour l'alimentation animale)**

par

S. AMARIGLIO

*(Laboratoire Central du Service Technique  
Interprofessionnel du Lait)*

**Avant-propos**

En période de surproduction, la dénaturation des produits permet de détourner ceux-ci de leur destination normale. Depuis quelques années, la dénaturation des laits secs est autorisée et contrôlée par l'Etat. Un lot de lait sec ne peut être, évidemment, dénaturé qu'une seule fois et la présence d'un dénaturant dans un lot de lait sec à dénaturer constituerait une fraude.

La Société INTERLAIT chargée par le F.O.R.M.A. du contrôle de la dénaturation a autorisé l'emploi de divers traceurs et en particulier du dextrose ou glucose dans les laits secs destinés à l'alimentation animale.

Le dextrose, poudre blanche, ne se décèle pas visuellement lorsqu'il est mélangé au lait, contrairement à d'autres dénaturants colorés tels que la luzerne par exemple.

Pour l'analyste, la qualité principale du traceur est sa caractérisation simple et rapide. La présence dans le lait d'un autre sucre, le lactose, rend la recherche du dextrose difficile par les méthodes traditionnelles.

Divers procédés de recherche basés sur des principes différents ont été étudiés.

**Méthodes chimiques traditionnelles**

1° Le dosage classique des sucres par cuprométrie a d'abord été effectué selon la *méthode Bertrand*.

Le résultat de cette détermination correspond au pouvoir réducteur du lactose  $C_{12}H_{22}O_{11}$  et du glucose  $C_6H_{12}O_6$ .

Les variations naturelles de la teneur en lactose et le taux élevé de ce sucre (environ 50 p. 100) dans les laits secs écrémés sont tels qu'il est pratiquement impossible de faire une discrimination entre les pouvoirs réducteurs respectifs du lactose et du traceur dextrose ajouté en quantité minime, de l'ordre de 1 à 2 p. 100.

2° Une méthode de recherche permettant de distinguer les sucres en  $C_6$  (glucose, fructose et galactose) des sucres en  $C_{12}$  (saccharose, lactose et maltose) a été mise au point, par action d'une solution à 5 p. 100 d'acétate neutre de cuivre. Il se forme un précipité d'oxyde cuivreux en présence de monosaccharides.

Mais la présence du lactose perturbe la réaction et seules des quantités de dextrose supérieures à 2 p. 100 peuvent être diagnostiquées avec certitude. Cette méthode manque de sensibilité.

3° D'autres méthodes de recherche dites spécifiques ont été essayées, en particulier par formation des osazones à l'aide de phénylhydrazine en milieu acétique.

Les corps cristallisés jaunes obtenus, observés au microscope, se présentent sous la forme d'aiguilles réunies en pinceaux ou en branches de genêt pour les glucosazones. Les osazones à formes globuleuses et aspect de châtaignes, caractérisent les lactosazones.

La différenciation des glucosazones et des lactosazones, relativement aisée à certaines concentrations des sucres, ne l'est plus dans les mélanges disproportionnés correspondant aux laits dénaturés. L'examen microscopique des cristaux nécessite une observation minutieuse et prolongée et les conclusions ne sont pas absolues.

*En résumé, aucune méthode chimique traditionnelle n'a pu être retenue.*

### Analyse chromatographique

La chromatographie permet le fractionnement et l'isolement des sucres même en quantités très faibles, par séparation sur papier filtre. Les substances sont entraînées par des solvants appropriés.

La vitesse d'absorption est fonction de la structure chimique du corps et du solvant utilisé. L'emplacement des sucres sur le papier est rendu visible par coloration des taches sous l'influence d'un révélateur. Après étude de différents procédés, nous avons retenu le protocole qui utilise comme solvant le mélange butanol-pyridine-eau et comme révélateur l'oxalate d'aniline. (1)

Environ 48 heures après le début de l'analyse, l'emplacement et la taille des taches de la solution étudiée, comparés à ceux de solutions-témoins permettent d'identifier et d'apprécier la dose de lactose et de sucre ajouté.

---

(1) Nous remercions MM. PLOUVIER & DEVOS des Ets ROQUETTE & Cie qui ont bien voulu nous conseiller l'emploi de cette technique.

La chromatographie sur papier présente de nombreux avantages par rapport aux techniques précédentes, notamment *spécificité* et *sensibilité*. Cependant elle exige une grande minutie dans la préparation des échantillons et un équipement spécial.

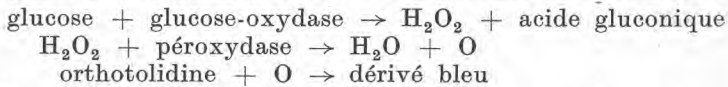
De plus elle ne peut être considérée comme rapide et ne peut convenir aux analyses de grande série.

### Réaction enzymatique

Les méthodes de recherche par réaction enzymatique ont une grande spécificité.

Nous avons essayé d'appliquer aux laits secs la réaction utilisée en biochimie pour la détection de glucose urinaire (1). L'expérimentation a été effectuée à l'aide d'un papier réactif (2) qui se présente sous la forme de bandelettes de papier filtre. L'extrémité du papier imprégnée du réactif se colore en bleu au contact d'un liquide glucosé.

En présence de glucose-oxydase, le glucose est transformé en acide gluconique avec formation de peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde est décomposé par l'enzyme peroxydase avec formation d'oxygène activé qui transforme l'orthotolidine en son dérivé bleu.



Nous avons expérimenté ce procédé. En présence des composants du lait ou des mélanges pour l'alimentation du bétail, la réaction garde-t-elle sa spécificité ?

1° *Les sucres*, tels que saccharose, lactose, maltose, galactose et le mélange dextrines-maltose donnent des réactions négatives, même en solutions aqueuses à saturation.

2° *Les matières protéiques* ne gênent absolument pas la réaction. Des solutions de lait déféquées donnent une intensité de coloration très voisine de celle de solutions non déféquées. Pour simplifier le test, il nous a paru inutile d'éliminer les matières protéiques par le ferrocyanure de zinc, l'épais précipité produit étant long à filtrer.

3° La présence de quantités importantes *d'acide lactique ou de lactates* (de Na, K, Ca ou NH<sub>4</sub>) ne perturbe pas non plus la réaction.

4° D'autres *traceurs* utilisés dans les mélanges, tels que luzerne et produits amylacés (amidon de maïs, fécule de pomme de terre) sont sans action sur le papier réactif.

(1) Voir références bibliographiques.

(2) CLINISTIX, fourni par le laboratoire AMES, 9, rue Emile Zola Paris 17<sup>e</sup>. Il existe dans le commerce, d'autres marques de papier réactif que nous n'avons pas encore expérimentées.

5° La présence d'une quantité importante de *matière grasse* dans les laits secs réengraissés ne gêne pas la réaction. Cependant le papier filtre s'imprègne moins rapidement du liquide.

*Tous ces essais ont montré la sensibilité et la spécificité de l'épreuve. C'est pourquoi nous avons depuis deux ans appliqué ce test à la recherche du dextrose dans les laits secs qui en principe n'étaient pas encore dénaturés.*

6° *Anomalies.* Exceptionnellement, quelques échantillons de laits secs prélevés pendant la période estivale ont donné des réactions positives, alors qu'ils étaient réputés non dénaturés. Renseignements pris, tous ces échantillons provenaient de la même laiterie. Ce cas particulier nous a incité à poursuivre nos recherches sur le test au papier réactif, et à chercher la cause de l'anomalie constatée.

Des travaux précédents effectués sur laits liquides nous avaient appris que l'utilisation de certains *conservateurs* (oxydants et réducteurs) activaient la réaction, mais leur présence était peu probable dans les laits secs.

Si le *formol* n'a aucune influence, par contre l'*eau oxygénée* et le *bichromate de potassium* donnent des réactions fortement positives.

Le bichromate est facilement décelable par la coloration jaune qu'il communique au lait.

Les échantillons anormaux et des témoins plus ou moins oxygénés ont subi parallèlement des épreuves de recherche d'eau oxygénée. Pour cela, deux procédés ont été utilisés :

a) Méthode chimique : décomposition de l'iodure de potassium en présence d'acide dilué et d'empois d'amidon.

b) Méthode enzymatique : application du test de la peroxydase.

Les résultats obtenus ont été positifs à la fois dans les témoins et dans les échantillons suspects.

Cette comparaison a permis de conclure à l'addition d'eau oxygénée aux laits incriminés. L'analyse par chromatographie sur papier effectuée parallèlement a confirmé l'absence de dextrose.

### **Application : méthode enzymatique de dosage du dextrose**

Jusqu'à présent, l'épreuve au papier réactif a été proposée comme un test uniquement qualitatif. Cependant des essais effectués à partir de laits écrémés additionnés de quantités croissantes de dextrose, jusqu'à 2 p. 100, ont permis de rendre l'épreuve quantitative à 0,1 p. 100 près. Cette légère imprécision s'explique par la composition des dextroses, de pureté en glucose variable selon les marques commerciales.

Nous sommes parvenus à des résultats plus précis en préparant des échantillons témoins contenant le même dextrose commercial que l'échantillon à analyser.

## Sensibilité

Le papier réactif permet de révéler la présence de 0,1 g de dextrose par litre de lait ou de lait reconstitué à 10 p. 100, soit 0,1 g dans 100 g de lait sec. Des quantités inférieures, de l'ordre de 0,05 g par 100 g donnent une réaction faiblement positive, mais la présence de dextrose ne peut être affirmée avec certitude.

## Mode opératoire

Le lait sec est reconstitué à 10 p. 100 (1 g de produit plus 9 ml d'eau distillée.)

Une vingtaine de minutes après dilution, tremper pendant quelques secondes l'extrémité réactive de la bandelette dans le liquide, puis la retirer.

La présence de dextrose est caractérisée par une coloration bleue plus ou moins intense.

Pour un dosage *approximatif*, comparer les colorations obtenues après 30 et 60 secondes de contact, à une gamme de couleurs sur papier préalablement étalonnée par des témoins à concentration connue en dextrose.

Au dessus de 1 p. 100 les colorations obtenues étant trop foncées, il est nécessaire de diluer l'échantillon avec du lait exempt de dextrose.

Pour un dosage *plus précis*, préparer des échantillons témoins ayant une composition voisine de celle de l'échantillon à tester notamment en matière grasse, et contenant des quantités croissantes du même dextrose.

Procéder à la réaction colorée en trempant simultanément une bandelette dans le lait à tester dilué, et une autre dans l'un des échantillons témoins. Observer et comparer l'intensité croissante des deux colorations.

## Conclusion

Pour un contrôle rapide de la présence du dextrose dans les laits secs, le procédé par réaction enzymatique donne entière satisfaction en raison de sa rapidité, de sa simplicité et de sa spécificité.

Dans les rares cas de réactions anormalement positives, il faut poursuivre les travaux par la recherche de l'eau oxygénée, ou par la confirmation de la présence de dextrose par chromatographie sur papier, méthode évidemment plus longue, mais dont le résultat est irréfutable.

L'application de ce test, depuis deux ans, à plus de 15 000 échantillons montre sa valeur théorique et pratique.

février 65.

### Résumé

La méthode enzymatique de recherche du glucose (ou dextrose) dans l'urine est appliquée au lait. Ce procédé convient aux analyses en grandes séries. Le dosage quantitatif est possible.

L'analyse chromatographique, beaucoup moins rapide, est retenue dans les cas anormaux.

### Summary

The enzymatic method for glucose (or dextrose) detection in urine is applied to milk. This method is convenient for large series analysis. Quantitative determination is possible.

Chromatographic analyses, which is far less rapid, is used in abnormal cases.

Nous tenons à remercier tout particulièrement *M<sup>me</sup> Serres*, Directrice du Laboratoire Central du S.T.I.L., qui nous a conseillé pour la réalisation de ce travail.

### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- R. CHARONNAT et M. MIOCQUE, *Annales pharm. franç.* Nov. 1957.  
M. PIETTE et M<sup>me</sup> C. PIETTE, *Path. Biol.* 1959 vol. 7 n° 11-12.  
D. KEILIN and E. F. MARTREE, Moltano Institute, University of Cambridge. *Biochem* 1948, 42. *Biochem* 1952, 50.  
J. B. HILL et G. KESSKER, *The Journal of Laboratory Clinical Medicine* St Louis, vol. 57, n° 6, juin 1961.
-