

## Dosage du lactose dans le lait et dans le yaourt fait maison

La présence de protéines dans le lait rend procure à ce dernier sa couleur blanche. C'est un gêne pour l'utilisation correcte du spectrophotomètre..

Pour doser le lactose dans le lait ou le yaourt, il faut donc préalablement éliminer ces protéines. Cela se fait par un procédé appelé "défécation" des protéines. On obtient alors une solution appelée lactosérum de lait ou lactosérum de yaourt.

Dans ces lactosérums se trouve le lactose à doser.

Le lactose n'absorbe pas dans le visible et est donc incolore.

Pour réaliser le dosage du lactose par spectrophotométrie, il faut donc transformer le lactose incolore en une molécule colorée (explications simplifiées). Cela est rendu possible en utilisant un réactif de coloration, ici le DNS (acide 3,5-dinitrosalicylique également appelé acide 2-hydroxy-3,5-dinitrobenzoïque).

### A. Questions préliminaires

L'activité technologique du jour nécessite une solution étalon en lactose à 1,00g/L.

Nous avons vu 2 façons de préparer une solution de concentration précise :

- par pesée de la substance
- par dilution à partir d'une solution mère plus concentrée.

**Q1.** Quelle masse de lactose en cristaux doit-on peser pour réaliser 200mL de solution de lactose à 1,00g/L ?

**Eq aux grandeurs**  $C_m = m / v \rightarrow m = C_m \times v$

**Eq aux unités**  $g = g/L \times L$

**Eq aux valeurs numériques**  $m = 1 \times 0.200$  ou  $m = 1 \times 200 \cdot 10^{-3}$

**Résultat avec unités**  $m = 0,200g$

**Phrase de conclusion** **La masse de lactose à peser est de 0,200g**

**Q2.** Quel volume d'une solution de lactose à 20,00g/L doit-on prélever pour préparer 200mL de solution fille à 1,00g/L ?

**Eq aux grandeurs**                     $C_{mi} V_i = C_{mf} V_f$                     →                     $V_i = C_{mf} V_f / C_{mi}$

**Eq aux unités**                    mL = g/L x mL / g/L

**Eq aux valeurs numériques**                     $V_i = 1 \times 200 / 20$

**Résultat avec unités**                     $V_i = 10\text{mL}$

**Phrase de conclusion**                    **Le volume de solution mère de lactose à prélever est**  
**de**                    **10mL**

**Q3.** EPI : justifier quelles mesures de sécurité doit-on respecter pour manipuler

- du lactosérum
- du DNS

**Pour le lactosérum, c'est un dérivé du lait donc pas de mesures de protection particulières**

**Pour le DNS. Je n'ai pas mis de pictogramme ou d'autres indications. Du coup, vous deviez chercher à quoi correspond ce produit et surtout sa dangerosité.**

**On trouve que ce produit est nocif et irritant. Donc port des EPI (lunettes, gants, blouse)**

Certains groupes ont dosé le lactose dans le lait, d'autres dans le yaourt. Tous ont eu à disposition une solution de lactose étalon à 1,00 g/L.

Le dosage spectrophotométrique s'effectue par réalisation d'une gamme étalon de lactose. Les tubes de la gamme et les tubes essais doivent être préparés en même temps et comme l'indique le tableau ci-dessous :

Tubes	0	1	2	3	4	5	Essai1	Essai2
Solution étalon de lactose à 1,00g/L (mL)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1		
Eau distillée (mL)	1,5	1,3	1,1	0,9	0,7	0,5		
Lactosérum (mL)							1,5	1,5
Réactif au DNS (mL)	1	1	1	1	1	1	1	1
Homogénéiser et boucher les tubes Porter au bain-marie bouillant pendant <b>exactement 5min</b> Refroidir dans un bain d'eau froide puis ajouter :								
Eau distillée (mL)	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
Homogénéiser et laisser reposer 15min avant de lire les absorbances à 540nm contre le témoin réactif.								
Absorbance à 540 nm	0	0,105	0,199	0,306	0,325	0,504		

Abs pour le lait entier

Absorbance à 540 nm							0,369	0,373
---------------------	--	--	--	--	--	--	-------	-------

Abs pour le yaourt fait maison

Absorbance à 540 nm							0,058	0,060
---------------------	--	--	--	--	--	--	-------	-------

**La droite d'étalonnage que vous allez élaborer avec les absorbances des tubes 0 à 5 servira à la fois pour le lait entier ET pour le yaourt fait maison. Inutile de faire 2 diagrammes car ce sont les mêmes.**

## C. Compte rendu

**Q4.** Calculer la concentration massique en lactose dans les tubes 0 à 5.

Expliquer de façon précise la démarche pour le tube 3 (indiquer l'équation aux grandeurs, l'équation aux unités, l'équation aux valeurs numériques, le résultat final).

Eq aux grandeurs             $C_{mi} V_i = C_{mf} V_f$              $\rightarrow C_{mf} = C_{mi} V_i / V_f$

Eq aux unités                 $g/L = (g/L \times mL) / mL$

Eq aux valeurs numériques     $C_{mf} = (1 \times 0,6) / 1,5$

Résultat avec unités         $C_{mf} = 0,40 \text{ g/L}$

Phrase de conclusion de        **La concentration massique en lactose du tube n°3 est 0,40 g/L**

**Q5.** Elaborer deux tableaux comprenant n° de tube, Abs à 540 nm et concentration massique en lactose, l'un pour le lait entier, l'autre pour le yaourt fait maison.

**Pour le lait entier :**

Tubes	0	1	2	3	4	5	Essai1	Essai2
concentration lactose en g/L	0	0,13	0,26	0,40	0,53	0,66	?	?
Absorbance à 540 nm	0	0,105	0,199	0,306	0,325	0,504	0,369	0,373

**Pour le yaourt fait maison**

Tubes	0	1	2	3	4	5	Essai1	Essai2
concentration lactose en g/L	0	0,13	0,26	0,40	0,53	0,66	?	?
Absorbance à 540 nm	0	0,105	0,199	0,306	0,325	0,504	0,058	0,060

**Attention à bien laisser au moins 2 chiffres après la virgule pour vos résultats de concentrations sinon on perd en précision sur le diagramme (qui sert à faire un dosage)**

**0,13g/L c'est 0,13 et non 0,1g/L etc...**

## C. Compte rendu

**Q6.** Pour le lait entier, à l'aide du fichier informatique à disposition,

- tracer la courbe  $Abs = f(\text{concentration massique en lactose})$
- recopier la valeur de la pente (a) et de l'ordonnée à l'origine (b) indiquées par le fichier et en déduire la concentration massique en lactose dans les essais 1 et 2 à l'aide des rappels suivants :

L'équation d'une droite est  $y = ax + b$

notre inconnue est x

d'où  $x = (y - b) / a$

car y, ordonnée, correspond ici à l'absorbance  
x, abscisse, correspond ici à la concentration

(Vous allez placer dans votre tableur les Abs et les Conc soit dans la colonne A, soit dans la colonne B. Ce n'est pas du hasard, à vous de choisir de manière à bien avoir sur le graphe les Abs en ordonnée et les Conc en abscisse)

**Si on prend tous les points, on obtient ce résultat.**

**On observe que la droite ne passe pas par tous les points.**

**On peut en supprimer MAIS il faut le faire point par point.**

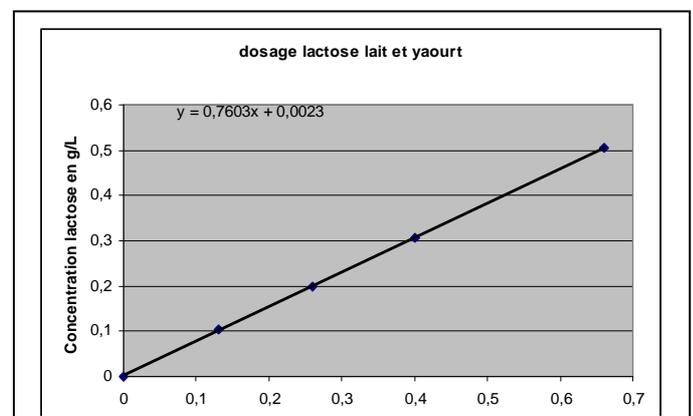
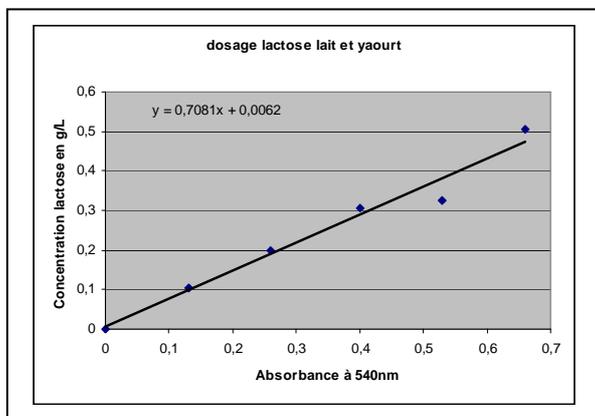
**Certainement pas en disant qu'on va éliminer les points 5 et 6 en même temps (voire même 4, 5 et 6). Pourquoi ?**

**Parce qu'en éliminant un point, la pente de la droite va être modifiée et elle correspondra peut-être à quelque chose d'acceptable.**

**La preuve ici, je n'enlève que le point 5 bien en dessous de la droite et j'obtiens la nouvelle droite.**

**Avec tous les points**

**Sans le point n°5**



**Pour les deux graphes, les équations de droite sont différentes. Comme on s'en sert pour déterminer la concentration de lactose, cela montre que cette étape d'élimination ou non de points est très importante.**

## C. Compte rendu

N'oubliez pas le titre et de nommer les axes. Avant cela, on vérifie que les concentrations sont bien en abscisse et les Abs en ordonnée (certains ont fait l'inverse et l'équation de droite utilisée est donc fausse !)

Equation de droite obtenue :

$$\blacksquare f(x) = 0,760x + 0,002$$

en maths,  $f(x) = y$ , on peut donc écrire :  $y = 0,760x + 0,002$

y représente l'axe des ordonnées et donc ici les absorbances.

x représente l'axe des abscisses et donc ici la concentration de lactose

$$y = 0,760x + 0,002$$

$$\text{Absorbance} = 0,760 \text{ concentration} + 0,002$$

$$\text{concentration} = (\text{Abs} - 0,002) / 0,760$$

$$\blacksquare \text{Abs essai 1} = 0,369$$

$$\text{concentration} = (\text{Abs} - 0,002) / 0,760$$

$$\text{concentration} = (0,369 - 0,002) / 0,760$$

$$\text{concentration} = 0,483 \text{ g/L}$$

Pour le premier essai, la concentration massique en lactose trouvée est de 0,483g/L

$$\blacksquare \text{Abs essai 2} = 0,373$$

$$\text{concentration} = (\text{Abs} - 0,002) / 0,760$$

$$\text{concentration} = (0,373 - 0,002) / 0,760$$

$$\text{concentration} = 0,464 \text{ g/L}$$

Pour le second essai, la concentration massique en lactose trouvée est de 0,464g/L

### C. Compte rendu

Pas de Sr dans ce sujet pour vérifier la compatibilité des résultats.  
On procède donc tout de suite à la moyenne des deux résultats

$$(0,483 + 0,464) / 2 = 0,474\text{g/L}$$

La concentration en lactose dans le lactosérum est de 0,474g/L

Q7. Reprendre la question 6 mais pour le yaourt fait maison.

**Même équation de droite**

$$\text{concentration} = (\text{Abs} - 0,002) / 0,760$$

$$\blacksquare \text{ Abs essai 1} = 0,058$$

$$\text{concentration} = (\text{Abs} - 0,002) / 0,760$$

$$\text{concentration} = (0,058 - 0,002) / 0,760$$

$$\text{concentration} = 0,074 \text{ g/L}$$

Pour le premier essai, la concentration massique en lactose trouvée est de 0,074g/L

$$\blacksquare \text{ Abs essai 2} = 0,060$$

$$\text{concentration} = (\text{Abs} - 0,002) / 0,760$$

$$\text{concentration} = (0,060 - 0,002) / 0,760$$

$$\text{concentration} = 0,076 \text{ g/L}$$

Pour le second essai, la concentration massique en lactose trouvée est de 0,076g/L

Pas de Sr dans ce sujet pour vérifier la compatibilité des résultats.  
On procède donc tout de suite à la moyenne des deux résultats

$$(0,074 + 0,076) / 2 = 0,075\text{g/L}$$

La concentration en lactose dans le lactosérum est de 0,075g/L

## **C. Compte rendu**

**Q8.** Sachant que le lactosérum sur lequel a été effectué le dosage était dilué au 1/100, déterminer la concentration massique en lactose du lait entier et du yaourt fait maison.

### **Lactosérum :**

**Si le lactosérum a été dilué 100 fois, c'est que la concentration est normalement 100 fois plus élevée que ce que nous avons trouvé.**

$$C_m = 0,474 \times 100$$

$$C_m = 47,5 \text{ g/L}$$

**Le lait possède une concentration massique en lactose de 47,5g/L**

**On aurait pu aussi utiliser la formule apprise lors du cours sur les dilutions :**

$$C_i = C_f \times d \quad C_i = 0,474 \times 100$$

### **Yaourt fait maison :**

**Si le yaourt a été dilué 100 fois, c'est que la concentration est normalement 100 fois plus élevée que ce que nous avons trouvé.**

$$C_m = 0,075 \times 100$$

$$C_m = 7,5 \text{ g/L}$$

**Le yaourt possède une concentration massique en lactose de 7,5g/L**

**On aurait pu aussi utiliser la formule apprise lors du cours sur les dilutions :**

$$C_i = C_f \times d \quad C_i = 0,075 \times 100$$

## **C. Compte rendu**

**Q9.** A partir de vos connaissances microbiologiques sur la manière d'élaborer un yaourt, expliquer la différence de concentration en lactose observée entre le lait entier et le yaourt fait maison (à partir de ce lait entier)

**Le lait possède une concentration massique en lactose de 47,5g/L  
Le yaourt possède une concentration massique en lactose de 7,5g/L donc bien moins.**

**Le yaourt se forme à partir de lait par précipitation des protéines qui s'y trouvent. L'acidité nécessaire à leur précipitation provient de l'activité bactérienne. En effet les bactéries présentes dans le lait fermentent le lactose. Ce dernier disparaît donc au fur et à mesure de la formation du yaourt. La concentration en lactose dans le yaourt est donc forcément plus faible par rapport au lait dont il est issu.**