



HAL
open science

Dosage du phosphore dans le lait

Jean Pien

► **To cite this version:**

| Jean Pien. Dosage du phosphore dans le lait. *Le Lait*, 1969, 49 (483_484), pp.175-188. hal-00928484

HAL Id: hal-00928484

<https://hal.science/hal-00928484>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Dosage du phosphore dans le lait

par

Jean PIEN

Président de la Commission Internationale d'Analyse du Lait

Dans un article précédent (1) nous avons exposé le résultat de notre étude du dosage de calcium dans le lait, étude dont nous avons été rapporteur au sein de la Fédération Internationale de Laiterie.

Parallèlement, et avec la collaboration du même groupe de travail, nous avons été amené à étudier le dosage du phosphore total dans le lait.

Comme dans le cas du dosage du calcium, le groupe de travail, après une série de travaux préliminaires, a sélectionné un certain nombre de méthodes, puis nous a chargé de les expérimenter et d'en extraire celle qui paraîtrait la plus susceptible d'être normalisée.

Le présent article rend compte de nos études dans ce domaine.

*
**

Les méthodes proposées par le groupe de travail étaient basées sur les principes suivants :

1) Minéralisation par voie sèche *avec* et *sans* adjonction d'acétate de magnésium, dissolution des cendres, application de la méthode colorimétrique de Allen (réduction du phosphomolybdate d'ammonium par l'amidol).

2) Minéralisation par voie humide à l'aide de l'acide perchlorique et détermination colorimétrique du phosphore par la méthode de Allen.

3) Aux méthodes précédentes nous avons cru devoir ajouter les méthodes étudiées par un autre groupe de travail pour le dosage du phosphore dans les fromages c'est-à-dire : minéralisation par voie humide à l'aide d'acide sulfurique additionné de perhydrol, suivie de la détermination colorimétrique du phosphore par réduction du phosphomolybdate d'ammonium à l'aide du sulfate d'hydrazine.

4) Nous avons également expérimenté la minéralisation nitroperchlorique et la minéralisation sulfonitrique, suivies du dosage

(1) Dosage du calcium dans le lait. Revue *Le Lait*, juillet-août 1968, pages 433 à 444.

colorimétrique du phosphore par l'une ou l'autre des méthodes indiquées ci-dessus.

Première partie

DESCRIPTION SOMMAIRE DES METHODES EMPLOYEES

I. MINERALISATION

1. Minéralisation par voie sèche (avec ou sans acétate de magnésium)

Dans une capsule de platine ou de quartz peser, exactement, environ 10 g de lait ou mesurer 10 ml de lait. Dans le cas où l'on aura à juger l'influence de l'acétate de magnésium, ajouter au contenu de la capsule 2 ml d'une solution aqueuse d'acétate de magnésium à 10 p. 100.

Evaporer à sec au bain-marie bouillant. Après dessiccation complète, calciner au four à moufle à une température comprise entre 500 °C et 550 °C jusqu'à obtention de cendres blanches.

Après refroidissement de la capsule, la couvrir d'un verre de montre, dissoudre les cendres dans quelques millilitres (en principe 3 ml) d'acide chlorhydrique N, diluer avec de l'eau distillée, transvaser dans une fiole jaugée de 100 ml, rincer le verre de montre et la capsule, recueillir les eaux de lavage dans la fiole. Compléter à 100 ml avec de l'eau. Filtrer. Prélever 10 ml du filtrat. Diluer à 100 ml avec de l'eau. Pour le dosage du phosphore, prélever 5 ml de cette dilution (= 0,05 g ou ml de lait).

2. Minéralisation par l'acide perchlorique

Dans une fiole de micro-kjeldahl, peser, exactement, environ 2 g de lait ou mesurer 2 ml de lait. Ajouter 2,5 ml d'acide perchlorique à 65 p. 100 ($d = 1,615$) et une perle de verre.

Faire bouillir doucement jusqu'à décoloration complète, puis pendant encore 20 minutes après la décoloration. Laisser refroidir. Transvaser dans une fiole jaugée de 100 ml, rincer la fiole d'attaque, recueillir les eaux de lavage dans la fiole jaugée. Compléter à 100 ml avec de l'eau. Mélanger. Pour le dosage du phosphore, prélever 2 ml de cette solution (= 0,04 g ou ml de lait).

3. Minéralisation par le mélange nitroperchlorique

Dans une fiole de micro-kjeldahl, peser exactement environ 2 g de lait ou mesurer 2 ml de lait. Ajouter 2,5 ml d'acide perchlorique à 65 p. 100 et 2,5 ml d'acide nitrique ($d = 1,33$). Procéder exactement comme dans le cas de la minéralisation perchlorique.

4. Minéralisation par le mélange sulfonitrique

Procéder comme dans le cas de la minéralisation nitroperchlorique en remplaçant les 2,5 ml d'acide perchlorique par 2,5 ml d'acide sulfurique concentré ($d = 1,84$).

5. Minéralisation par le mélange acide sulfurique + perhydrol

Dans une fiole de micro-kjeldahl peser exactement environ 1 g de lait ou mesurer 1 ml de lait. Ajouter 2 ml d'acide sulfurique concentré ($d = 1,84$) et une perle de verre.

Chauffer avec précaution. Dès que la mousse cesse de se former, refroidir puis ajouter quelques gouttes de perhydrol (peroxyde d'hydrogène à 30 p. 100). Chauffer à nouveau et répéter les additions de perhydrol jusqu'à décoloration complète. Lorsque ce stade est atteint, rincer le col de la fiole avec 2 ml d'eau distillée, chauffer pour évaporer l'eau, faire bouillir encore pendant une demi-heure après décoloration totale pour détruire les dernières traces d'eau oxygénée. Refroidir, diluer à 100 ml et prélever 5 ml pour le dosage colorimétrique (= 0,05 g ou ml de lait).

II. DOSAGE COLORIMÉTRIQUE DU PHOSPHORE

1. Réduction du phosphomolybdate par l'amidol (méthode de Allen)

Dans une fiole jaugée de 25 ml introduire successivement :

- le volume prescrit de la solution à doser (voir plus haut),
- 2 ml d'acide perchlorique à 65 p. 100,
- 2 ml de solution d'amidol (1),
- 1 ml de solution de molybdate d'ammonium (2).

Compléter à 25 ml avec de l'eau distillée. Agiter. Attendre 15 minutes. Colorimétrer dans un spectrophotomètre (cuve de 1 cm) à 750 m μ . Calculer la teneur en phosphore en utilisant une courbe d'étalonnage préparée à l'aide d'une solution de phosphate monopotassique.

2. Réduction du phosphomolybdate par le sulfate d'hydrazine

Dans une fiole jaugée de 50 ml introduire successivement :

- le volume prescrit de la solution à doser (voir plus haut),
- 15 ml d'eau distillée,
- 20 ml de solution C (3).

(1) Dissoudre dans de l'eau distillée, 1 g d'amidol (chlorhydrate de diamino-2,4 phénol) et 20 g de méta-bisulfite de sodium. Compléter à 100 ml. Préparer chaque jour une nouvelle solution.

(2) Solution aqueuse à 8,3 p. 100. Ajouter quelques ml (2 à 3) d'ammoniaque pour faciliter la dissolution.

(3) *Préparation du réactif spécial.*

- Solution A : Solution de molybdate de sodium à 2,5 p. 100 dans l'acide sulfurique 10 N.
- Solution B : Solution de sulfate d'hydrazine à 0,15 p. 100 dans l'eau distillée.
- Solution C : Au moment de l'emploi, mélanger 25 ml de solution A et 10 ml de solution B et diluer à 100 ml avec de l'eau distillée.

Compléter à 50 ml. Agiter. Porter 10 minutes au bain-marie bouillant. Refroidir dans un courant d'eau froide. Colorimétrer dans un spectrophotomètre (cuve de 1 cm) à 750 m μ . Calculer la teneur en phosphore en utilisant une courbe d'étalonnage préparée à l'aide d'une solution de phosphate monopotassique.

Deuxième partie

RESULTATS OBTENUS

I. ETUDE DE LA MINERALISATION A SEC. INFLUENCE DE L'ACETATE DE MAGNESIUM

Le groupe de travail avait demandé d'étudier l'influence de l'addition d'acétate de magnésium comme élément fixateur du phosphore au cours de l'incinération, car il est parfaitement connu que, dans le cas de certaines substances organiques pauvres en matières minérales, il se produit des pertes de phosphore par réduction à l'état de phosphure. Cette perte est évitée si l'on ajoute une certaine quantité de matières minérales lors de la minéralisation à sec.

Dans cette étude on a donc comparé les résultats obtenus par la calcination du lait en présence et en l'absence d'acétate de magnésium, le dosage du phosphore ayant été effectué par la méthode de Allen.

Résultats exprimés en phosphore p. 100 :

| <i>Laits individuels</i> | Minéralisation à sec | |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | avec acétate de magnésium | sans acétate de magnésium |
| N° 1 | 0,085 | 0,085 |
| » 2 | 0,079 | 0,079 |
| » 3 | 0,100 | 0,100 |
| » 4 | 0,110 | 0,106 |
| » 5 | 0,102 | 0,102 |
| » 6 | 0,098 | 0,096 |
| » 7 | 0,100 | 0,100 |
| » 8 | 0,100 | 0,100 |
| » 9 | 0,094 | 0,095 |
| » 10 | 0,090 | 0,091 |
| » 11 | 0,095 | 0,094 |
| » 12 | 0,097 | 0,097 |
| » 13 | 0,093 | 0,092 |
| <i>Laits de mélange</i> | | |
| N° A | 0,095 | 0,095 |
| » B | 0,090 | 0,091 |
| » C | 0,100 | 0,100 |
| <i>Moyennes</i> | 0,0955 | 0,0952 |

Conclusion : Les résultats obtenus sont les mêmes en présence ou en l'absence d'acétate de magnésium, ce qui signifie que le lait contient assez de matières minérales pour qu'il ne se produise pas de pertes de phosphore au cours de la calcination.

Remarque : Dans quatre laits de mélange nous avons introduit exactement 0,02 de phosphore pour cent grammes (sous forme de solution titrée de phosphate monopotassique sec). Nous avons procédé de nouveau au dosage du phosphore total par minéralisation à sec suivie du dosage colorimétrique selon Allen.

Nous avons trouvé :

| | P. total théorique | P. total trouvé |
|--------------|--------------------|-----------------|
| Lait A | 0,115 | 0,115 |
| Lait C | 0,120 | 0,121 |
| Lait D | 0,119 | 0,119 |
| Lait E | 0,1185 | 0,1195 |

Cette méthode permet donc de retrouver exactement les quantités de phosphore ajoutées au lait.

II. COMPARAISON DE LA MINÉRALISATION PAR VOIE SECHE ET DE LA MINÉRALISATION PAR VOIE HUMIDE DANS LE DOSAGE DU PHOSPHORE

Compte tenu de ce qui précède, la comparaison a porté sur des laits dont la minéralisation à sec a été effectuée sans addition d'acétate de magnésium, la minéralisation par voie humide ayant été réalisée par l'acide perchlorique. Dans les deux cas, le dosage colorimétrique du phosphore a été effectué par la méthode de Allen.

Résultats exprimés en phosphore p. 100 :

| | Minéralisation à sec | Minéralisation par l'acide perchlorique |
|--------------------------|----------------------|---|
| <i>Laits individuels</i> | | |
| N° 9 | 0,095 | 0,096 |
| » 10 | 0,091 | 0,091 |
| » 11 | 0,094 | 0,096 |
| » 12 | 0,097 | 0,096 |
| » 13 | 0,092 | 0,094 |
| » 14 | 0,095 | 0,094 |
| » 15 | 0,100 | 0,100 |
| » 16 | 0,090 | 0,091 |
| » 17 | 0,103 | 0,102 |
| » 18 | 0,095 | 0,091 |
| » 19 | 0,100 | 0,100 |
| » 20 | 0,092 | 0,093 |
| <i>Laits de mélange</i> | | |
| N° A | 0,095 | 0,094 |
| » B | 0,091 | 0,090 |
| » C | 0,100 | 0,100 |
| <i>Moyennes</i> | 0,0953 | 0,0952 |

Conclusion : Les résultats obtenus par les deux méthodes de minéralisation sont pratiquement identiques. On peut donc indifféremment faire appel à l'une ou à l'autre pour le dosage du phosphore dans le lait.

III. ETUDE DE LA MINÉRALISATION NITROPERCHLORIQUE

Ayant eu l'occasion d'observer accidentellement que l'attaque nitroperchlorique paraissait entraîner des résultats excédentaires dans le dosage du phosphore par les méthodes colorimétriques faisant appel à la réduction du phosphomolybdate, nous avons comparé cette méthode aux précédentes (en procédant, dans tous les cas, au dosage de phosphore par la méthode de Allen).

1. Comparaison : minéralisation nitroperchlorique et minéralisation à sec

Résultats exprimés en p. 100.

| <i>Laits individuels</i> | Minéralisation à sec | Minéralisation nitroperchlorique |
|--------------------------|-------------------------|-------------------------------------|
| N° 1 | 0,085 | 0,099 |
| » 2 | 0,079 | 0,093 |
| » 3 | 0,100 | 0,105 |
| » 4 | 0,110 | 0,125 |
| » 5 | 0,102 | 0,105 |
| » 6 | 0,098 | 0,122 |
| » 14 | 0,095 | 0,096 |
| » 15 | 0,100 | 0,102 |
| » 16 | 0,090 | 0,094 |
| » 17 | 0,103 | 0,114 |
| » 18 | 0,095 | 0,100 |
| » 19 | 0,100 | 0,112 |
| » 20 | 0,092 | 0,100 |
| » 31 | 0,103 | 0,119 |
| » 32 | 0,085 | 0,094 |
| » 33 | 0,103 | 0,119 |
| » 34 | 0,088 | 0,097 |
| » 35 | 0,108 | 0,152 (?) |
| » 36 | 0,100 | 0,118 |
| » 37 | 0,083 | 0,094 |
| <i>Moyennes</i> | 0,0959 | 0,108 |

Conclusion : La minéralisation nitroperchlorique perturbe le dosage colorimétrique du phosphore. Les résultats obtenus sont très irréguliers et tous excédentaires. On peut craindre qu'il ne subsiste, après la minéralisation, des composés oxydés de l'azote difficiles ou impossibles à évacuer, qui modifient la coloration du produit de réduction du phosphomolybdate. Cet inconvénient ne se produit pas, évidemment, avec l'acide perchlorique employé seul.

2. Comparaison : minéralisation nitroperchlorique et minéralisation perchlorique

En rapprochant les chiffres obtenus dans les minéralisations perchlorique et nitroperchlorique (avec dosage colorimétrique du phosphore selon Allen), on doit donc retrouver des écarts du même ordre que ceux que nous venons de constater.

Résultats exprimés en p. 100.

| <i>Laits individuels</i> | Minéralisation perchlorique | Minéralisation nitroperchlorique |
|--------------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| N° 14 | 0,094 | 0,096 |
| » 15 | 0,100 | 0,103 |
| » 16 | 0,091 | 0,094 |
| » 17 | 0,102 | 0,114 |
| » 18 | 0,091 | 0,100 |
| » 19 | 0,100 | 0,113 |
| » 20 | 0,093 | 0,100 |
| <i>Moyennes</i> | 0,0958 | 0,103 |

Conclusion : Il y a une nette différence entre la minéralisation perchlorique et la minéralisation nitroperchlorique, cette dernière étant à rejeter dans le cas du dosage colorimétrique du phosphore dans le lait.

IV. AUTRES METHODES DE MINERALISATION PAR VOIE HUMIDE

Etant donné que nous disposons déjà d'une méthode excellente et très simple de minéralisation par voie humide (faisant appel à l'acide perchlorique) nous n'avons pas cru devoir insister longuement sur l'étude des autres méthodes possibles.

Nous avons donc sommairement expérimenté :

- la minéralisation par le mélange acide sulfurique + perhydrol,
- la minéralisation par le mélange acide sulfurique + acide nitrique.

1) *La première* de ces deux méthodes a été recommandée pour le dosage du phosphore total dans les fromages. Elle prend plus de temps que les méthodes précédentes en raison de la nécessité de laisser refroidir entre les affusions de perhydrol. D'autre part elle comporte un risque d'erreur dans le cas de l'emploi de certains peroxydes d'hydrogène stabilisés à l'acide phosphorique. (Il est évidemment possible de se protéger contre cet inconvénient grâce à une vérification préalable). Quoi qu'il en soit nous avons, à l'usage, estimé que la minéralisation à sec et la minéralisation humide à l'acide perchlorique employé seul étaient préférables à la minéralisation sulfoperhydrique.

2) La seconde de ces deux méthodes donne, comme la minéralisation nitroperchlorique, des résultats légèrement supérieurs à ceux de la minéralisation perchlorique ou à ceux de la minéralisation à sec. Cette méthode ancienne et d'ailleurs excellente pour de nombreux dosages colorimétriques de traces d'éléments, ne convient pas bien dans le cas du dosage du phosphore (lorsque celui-ci est basé sur la formation du bleu de molybdène résultant de la réduction du phosphomolybdate). C'est pourquoi nous ne l'avons pas retenue.

V. COMPARAISON DE LA METHODE A L'AMIDOL ET DE LA METHODE AU SULFATE D'HYDRAZINE POUR LE DOSAGE COLORIMETRIQUE DU PHOSPHORE

Dans les divers dosages de cette série, la minéralisation a été faite par l'acide perchlorique.

Résultats exprimés en phosphore p. 100.

| | Amidol | Sulfate d'hydrazine |
|--------------------------|--------|---------------------|
| <i>Laits individuels</i> | | |
| N° 21 | 0,102 | 0,101 |
| » 22 | 0,092 | 0,092 |
| » 23 | 0,093 | 0,093 |
| » 24 | 0,094 | 0,093 |
| » 25 | 0,089 | 0,089 |
| » 26 | 0,087 | 0,086 |
| » 27 | 0,102 | 0,102 |
| » 28 | 0,094 | 0,093 |
| » 29 | 0,108 | 0,108 |
| » 30 | 0,099 | 0,098 |
| <i>Moyennes</i> | 0,0960 | 0,0955 |

Conclusion : Les deux méthodes étudiées de réduction du phosphomolybdate conduisent à des résultats identiques.

Remarque : Nous avons également expérimenté, sans l'adopter, l'ancienne méthode de Schroder qui consiste à faire réagir les phosphates avec le molybdate d'ammonium, en présence de vanadate d'ammonium et à colorimétrer le composé jaune obtenu. Cette méthode est longue, elle nécessite l'emploi de plusieurs réactifs et surtout exige de travailler à un pH bien déterminé.

Troisième partie

COMMENTAIRES

Parmi les méthodes étudiées ci-dessus nous avons à faire un choix, d'une part, parmi les méthodes de minéralisation, d'autre part, parmi les méthodes de dosage colorimétrique du phosphore.

I. METHODES DE MINERALISATION

1. Minéralisation à sec

La destruction des matières organiques par calcination est une méthode très simple qui ne prend pas beaucoup de temps effectif et qui présente l'avantage de ne pas introduire de réactifs susceptibles de perturber le dosage colorimétrique.

Nous avons vu qu'il n'était pas nécessaire d'ajouter au lait un fixateur de phosphore tel que l'acétate de magnésium.

2. Minéralisation par voie humide

— L'acide perchlorique employé seul, comme le recommandent King dès 1932 et Allen en 1940, conduit à d'excellents résultats, identiques à ceux de la minéralisation à sec. (Il convient de noter que Allen recommande, dans certaines circonstances, d'ajouter un peu d'eau oxygénée pour parfaire la minéralisation s'il y a beaucoup de matières organiques. Dans le cas du lait, nous n'avons pas eu besoin de recourir à cet artifice). Certains auteurs et de nombreux expérimentateurs insistent sur le danger d'explosion que peut présenter la minéralisation des matières organiques par l'acide perchlorique employé seul. Nous n'avons jamais constaté de tels inconvénients en employant de l'acide pur à 65 p. 100, que nous utilisons couramment et avec avantage depuis de nombreuses années.

Néanmoins nous serons amenés à tenir compte de ces réserves formulées par de nombreux collègues :

— Le mélange acide perchlorique + acide nitrique recommandé par Kagi (1949) puis par Mattson et Swartling (1954, 1965) nous a régulièrement conduit à des résultats excédentaires lorsque le dosage colorimétrique du phosphore est ensuite effectué par la méthode de Allen à l'amidol. A cet égard la comparaison donnée plus haut entre les résultats des minéralisations perchlorique et nitroperchlorique est particulièrement nette. Nous attribuons ce résultat à la persistance, dans le produit de la minéralisation nitroperchlorique, de dérivés oxygénés de l'azote qui modifient la densité optique de la réaction colorée. Kagi ne signale pas cet inconvénient, mais son travail avait surtout pour objet de préciser les meilleures conditions d'emploi de l'acide perchlorique pour conduire sans danger les minéralisations (l'une de ces conditions étant précisément l'addition d'acide nitrique au mélange).

— La minéralisation sulfonitrique présente également cet inconvénient probablement pour la même raison.

— La minéralisation par l'acide sulfurique et le perhydrol est longue et parfois difficile à appliquer.

3. Choix d'une méthode de minéralisation

Pour toutes les raisons précédentes, il ne nous reste à choisir qu'entre la minéralisation à sec et la minéralisation perchlorique.

Ces deux méthodes se valent absolument au point de vue des résultats. Nous donnerions volontiers la préférence à la minéralisation perchlorique en raison de son élégance et de sa rapidité. Néanmoins pour les raisons indiquées plus haut (dangers d'explosion) et aussi parce que la notion de rapidité d'exécution ne doit pas intervenir dans l'élaboration d'une norme c'est-à-dire d'une *méthode étalon*, nous fixons finalement notre choix sur la minéralisation à sec (sans addition d'acétate de magnésium) qui constitue une méthode très sûre, très fidèle, ne comportant aucune contre-indication et qui nous a toujours donné la plus entière satisfaction.

II. METHODES DE DOSAGE COLORIMETRIQUE DU PHOSPHORE.

Nous avons donc expérimenté et comparé :

- la méthode de Allen par réduction de phosphomolybdate par l'amidol,
- la méthode par réduction du phosphomolybdate par le sulfate d'hydrazine.

Ces deux méthodes conduisent aux mêmes résultats. La première est plus simple et plus rapide que la seconde (entre autres choses : le développement de la couleur s'effectue à la température ordinaire dans la première méthode alors que dans la seconde il faut recourir au bain-marie bouillant, nécessitant un refroidissement ultérieur).

Nous avons donc choisi et nous proposons d'utiliser la méthode par réduction du phosphomolybdate par l'amidol.

*

**

Quatrième partie

CHOIX D'UNE METHODE

En conclusion nous proposons, pour le dosage du phosphore dans le lait, une méthode analytique basée sur les principes suivants :

- 1) minéralisation à sec par incinération à 500 °C - 550 °C,
- 2) dosage colorimétrique du phosphore par la méthode de Allen (réduction du phosphomolybdate par l'amidol).

Le détail de cette technique a été finalement adopté par la Commission des analyses chimiques de la FIL et publié comme « Norme Officielle Internationale de la Fédération Internationale de Laiterie » (année 1967, norme n° 42) dont nous reproduisons ci-après le texte intégral.

Norme Internationale F.I.L. N° 42

Détermination de la teneur en phosphore du lait

1. Domaine d'application.

Cette méthode est applicable à tous les laits liquides normaux ainsi qu'aux laits reconstitués par dilution ou dissolution des laits concentrés ou des laits secs.

2. Définition de la teneur en phosphore du lait.

Par teneur en phosphore du lait, il faut entendre la quantité totale de phosphore exprimée en pourcentage pondéral que l'on obtient lors de l'application de la méthode décrite ci-après.

3. Principe de la méthode.

Les matières organiques du lait sont détruites par minéralisation à sec (incinération). Le phosphore est dosé colorimétriquement en réduisant le phosphomolybdate d'ammonium par le diaminophénol (amidol) et en mesurant la densité optique de la solution obtenue.

4. Réactifs.

- 4.1 Acide chlorhydrique (HCl) 1,0 N.
- 4.2 Acide perchlorique (HClO₄) à 65 p. 100 (densité 1,61).
- 4.3 Solution d'amidol : dissoudre dans de l'eau distillée 1 g d'amidol (2,4 diaminophénol dichlorhydrate : (NH₂)₂ C₆ H₃ OH, 2HCl) et 20 g de métabisulfite de sodium ou pyrosulfite de sodium (Na₂ S₂ O₅). Compléter à 100 ml dans une fiole jaugée bouchée à l'émeri. Préparer chaque jour une nouvelle solution.
- 4.4 Solution de molybdate : dissoudre dans de l'eau distillée 8,3 g de molybdate d'ammonium : (NH₄)₆ Mo₇ O₂₄, 4H₂O. Compléter à 100 ml.
- 4.5 Solution aqueuse de phosphate monopotassique (à partir de KH₂PO₄ séché pendant deux heures à 105 °C) permettant de tracer une courbe d'étalonnage pour le dosage du phosphore : peser 4,393 g de KH₂PO₄, dissoudre dans de l'eau distillée et compléter à 1 000 ml (solution A). Prélever 10 ml de solution A, diluer à 1 000 ml (solution B). 1 ml de solution B = 10 microgrammes de P.

Tous ces réactifs doivent être de qualité analytique.

5. Appareils et matières auxiliaires.

- 5.1 Balance analytique.
- 5.2 Capsules de platine ou de quartz (diamètre 55 mm).
- 5.3 Bain-marie.
- 5.4 Pipettes de 1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml.
- 5.5 Fioles jaugées de 25 ml bouchées à l'émeri, 100 ml, 1 000 ml.
- 5.6 Four à moufle.
- 5.7 Etuve à 105 °C ± 2 °C.
- 5.8 Spectrophotocolorimètre.

6. Prélèvement de l'échantillon.

Se reporter à la Norme Internationale FIL-IDF n° 2 (1958) : « Méthodes pour le prélèvement d'échantillons de lait et de produits laitiers ».

7. Mode opératoire.

7.1 Préparation de l'échantillon

Avant l'analyse, porter l'échantillon à $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ et le rendre homogène par agitation. Si l'on n'obtient pas une dispersion homogène de la matière grasse, chauffer lentement l'échantillon à 40°C , agiter doucement et refroidir à $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

7.2 Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc avec tous les réactifs en opérant comme il est prescrit à partir du point 7.3.3.1 mais en remplaçant les 5 ml de la dilution par 5 ml d'eau distillée.

7.3 Dosage

7.3.1 Minéralisation par voie sèche

7.3.1.1 Dans une capsule de platine ou de quartz peser environ 10 g de lait à 10 mg près.

7.3.1.2 Evaporer à sec au bain-marie bouillant.

7.3.1.3 Après dessiccation complète, calciner au four à moufle à une température comprise entre 500°C et 550°C jusqu'à obtention de cendres blanches.

7.3.2 Préparation de la solution des cendres

7.3.2.1 Après refroidissement de la capsule, la couvrir d'un verre de montre, dissoudre les cendres dans 2 à 3 ml d'acide chlorhydrique normal, diluer avec de l'eau distillée.

7.3.2.2 Transvaser dans une fiole jaugée de 100 ml, rincer le verre de montre et la capsule, recueillir les eaux de lavage dans la fiole. Compléter à 100 ml avec de l'eau distillée. Agiter. Filtrer.

7.3.2.3 Prélever 10 ml du filtrat, les introduire dans une fiole de 100 ml. Compléter à 100 ml avec de l'eau distillée. Agiter.

7.3.3 Dosage colorimétrique du phosphore

7.3.3.1 Prélever 5 ml de la dilution préparée selon 7.3.2.3 et les introduire dans une fiole jaugée de 25 ml.

7.3.3.2 Ajouter successivement 2 ml d'acide perchlorique, 2 ml de la solution d'amidol, 1 ml de la solution de molybdate d'ammonium. Compléter à 25 ml avec de l'eau distillée. Mélanger.

7.3.3.3 Attendre 5 minutes et mesurer la densité optique en utilisant une cuve de 1 cm dans un spectrophotocolorimètre à 750 nm.

7.3.3.4 Chercher sur la courbe standard la quantité de phosphore contenue dans la fiole de 25 ml, exprimée en microgrammes et correspondant à la densité optique lue en 7.3.3.3.

7.3.4 *Etablissement de la courbe standard*

7.3.4.1 Dans quatre fioles jaugées de 25 ml introduire 3, 5, 7, 10 ml de la solution B préparée selon 4.5. Les quantités de phosphore ainsi introduites dans ces fioles sont égales à 30, 50, 70, 100 microgrammes de phosphore.

7.3.4.2 Procéder ensuite comme en 7.3.3.2 et 7.3.3.3.

7.3.4.3 Reporter sur un graphique les densités optiques obtenues suivant 7.3.4.2 en fonction des quantités de phosphore présentes dans les fioles. Tracer la courbe standard (qui est une droite).

8. Expression des résultats.

8.1 *Mode de calcul*

La teneur du lait en phosphore, exprimée en grammes de phosphore pour 100 grammes de lait, est donnée par la formule suivante :

$$\text{Phosphore p. 100} = \frac{m - m'}{50 M}$$

où :

m = masse de phosphore, exprimée en microgrammes, obtenue selon 7.3.3.4 et contenue dans la fiole de 25 ml renfermant la prise d'essai d'environ 50 mg de lait ;

m' = masse de phosphore, exprimée en microgrammes, obtenue selon 7.3.3.4 et contenue dans l'essai à blanc ;

M = masse de lait, exprimée en grammes, mise en œuvre pour la minéralisation.

8.2 *Répétabilité des résultats*

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre par le même analyste ne doit pas excéder 0,003 g de phosphore pour 100 g de lait.

S u m m a r y

The International Dairy Federation has standardized an official method for the determination of phosphorus in milk on the following basis :

1) Dry ashing at 500° C - 550° C. This treatment of the test portion was preferred to wet mineralization. The reasons for that are given.

2) Colorimetric determination of phosphorus by the Allen's method (reduction of phosphomolybdate by diamidophenol). This treatment was preferred to reduction of phosphomolybdate by hydrazine sulfate for the given reasons.

The repeatability of this method is excellent (less than 0,003 g of phosphorus for 100 g of milk).

Bibliographie

ALLEN (R.J.L.). — Biochem. J. 34, 858 (1940).

KAGI (F.). — XII^e Congrès Intern. de laiterie, Stockholm (1949), 2, 706.

KING. — Biochem. J. 26, 292 (1932).

MATTSSON (S.) et SWARTLING (P.). — Milk and Dairy Research, Alnarp (S.). — Report n° 43 (1954).

RITTER (W.). — Groupe de Travail E (FIL). V. Doc. 71/1966.

SCHRODER (R.). — Stahl u. Eisen, 38, 316 (1918).

Reçu pour publication en octobre 1968.
