



HAL
open science

Détermination des sucres par chromatographie en phase gazeuse. Applications à la mesure de l'activité de la bêta galactosidase dans les ultra-filtrats de lactosérum et à l'étude de l'évolution du lactose dans les yaourts nature

L. Mouillet, F. M. Luquet, J. F. Boudier, A. Degros

► To cite this version:

L. Mouillet, F. M. Luquet, J. F. Boudier, A. Degros. Détermination des sucres par chromatographie en phase gazeuse. Applications à la mesure de l'activité de la bêta galactosidase dans les ultra-filtrats de lactosérum et à l'étude de l'évolution du lactose dans les yaourts nature. *Le Lait*, 1977, 57 (561_562), pp.37-54. hal-00928750

HAL Id: hal-00928750

<https://hal.science/hal-00928750>

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.

**Détermination des sucres par chromatographie
en phase gazeuse.
Applications à la mesure de l'activité
de la bêta galactosidase dans les ultra-filtrats
de lactosérum et à l'étude de l'évolution du lactose
dans les yaourts nature**

par

L. MOUILLET, F. M. LUQUET et J. F. BOUDIER

Collaboration technique A. DEGROS

Labcodral, 105, rue de l'Université - 59509 Douai

Le dosage du lactose, et des autres sucres réducteurs ou non, peut être facilement effectué essentiellement par des méthodes chimiques, enzymatiques ou polarimétriques. Toutefois, lorsque le milieu à analyser renferme plusieurs de ces sucres, la plupart de ces méthodes ne conviennent pas et il est alors nécessaire de réaliser une séparation de la fraction glucidique par voie chromatographique.

Une technique de chromatographie semble bien adaptée à ce type de détermination : la chromatographie en phase gazeuse.

En premier lieu, il convenait de choisir et d'adapter une méthode de dosage par chromatographie en phase gazeuse, applicable à tous les produits laitiers. Après avoir maîtrisé la technique nous avons entrepris deux types d'études, faisant intervenir l'hydrolyse du lactose essentiellement sous forme d'isomères du glucose et du galactose, soit :

— La mesure de l'activité de la β galactosidase dans les ultra-filtrats de lactosérum.

— L'étude de l'évolution du lactose dans les yaourts nature au cours de leur fabrication et de leur conservation.

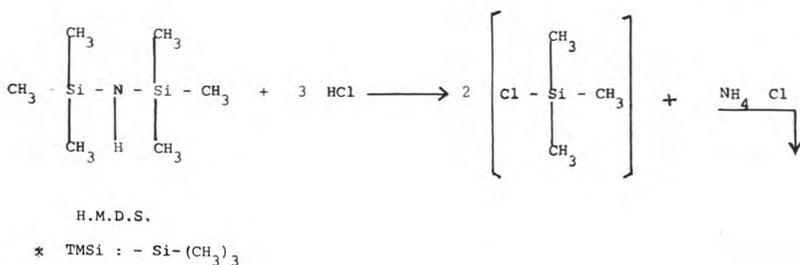
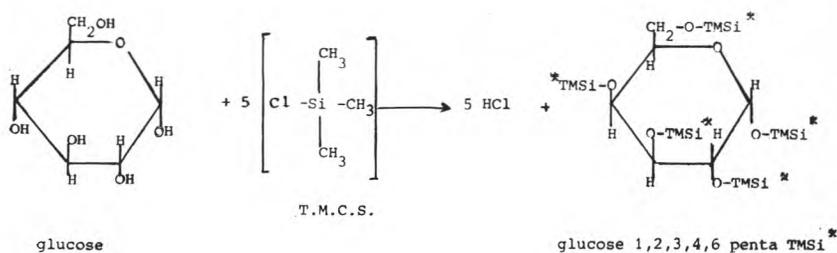
I. DETERMINATION QUANTITATIVE DES SUCRES PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

I. 1. Transformation des sucres en esters triméthylsilylés

I.1.a. PRINCIPE

Les sucres sont des substances trop peu volatiles pour permettre une chromatographie en phase gazeuse directe. Ils doivent subir un traitement afin de leur donner cette propriété : il est nécessaire de les transformer en esters silylés. Cette transformation est effectuée en les traitant, préalablement dissous dans un solvant approprié, par un réactif remplaçant tous les groupements -OH, par des groupements -Si-(CH₃)₃.

Il existe beaucoup de réactifs silylants mais les plus couramment utilisés sont le triméthylchlorosilane (TMCS) comme réactif principal et l'hexaméthylidisilazane (HMDS) utilisé comme catalyseur.

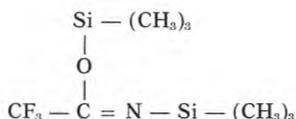


En présence d'eau l'ester s'hydrolyse et la silylation est incomplète.

I.1.b. MÉTHODE DE SILYLATION

La silylation des sucres par le TMCS/HMDS, s'est révélée relativement lente surtout pour les diholosides. De plus, les dérivés

triméthylsilylés semblent n'être stables qu'après le 2^e jour [3]. Pour ces raisons nous avons utilisé un autre réactif de silylation qui s'est avéré très énergique : le N, O bis (Triméthylsilyl) - trifluoroacétamide (BSTFA) :



Il faut noter aussi que le BSTFA, renferme du fluor ce qui permet un certain masquage du dépôt d'acide silicique qui s'accumule au niveau du détecteur. Celui-ci étant peu sali, sa sensibilité reste la même plusieurs jours [5].

Ajouter à environ 5 mg de sucre, 250 μl de pyridine et 500 μl de BSTFA/HDMS Boucher le récipient et agiter quelques secondes. L'ensemble des réactifs forme une solution homogène et limpide, sans apparition de précipités comme cela se produit en utilisant le TMCS/HMDS. La silylation s'effectue à l'étuve à 80° C pendant 4 h.

Ce temps a été jugé nécessaire pour obtenir une silylation parfaite. En effet si le glucose ou le galactose et tous les autres sucres simples se transforment rapidement et quantitativement en esters silylés, il n'en est pas de même pour le lactose ou le saccharose pour qui un temps de silylation plus court peut conduire à des chromatogrammes anormaux [3].

I.2. DÉTERMINATION QUANTITATIVE DES SUCRES

L'analyse quantitative des sucres requiert l'utilisation d'un étalon interne. Celui-ci doit présenter les caractères suivants :

- Ne former qu'un seul pic.
- Ne chevaucher aucun sucre.
- Se trouver au centre du chromatogramme.

Nous avons utilisé du β phényl-D-glucopyranoside.

Des courbes d'étalonnage ont été établies, à partir de solutions de sucres renfermant des quantités croissantes de glucose, de galactose, de lactose et une quantité constante d'étalon interne.

L'intégration des pics par les méthodes habituelles (triangulation) est relativement longue et nous avons constaté que la mesure de la hauteur des pics apporte une précision et une reproductibilité au moins équivalentes, dans le cas présent.

Pour chacun des sucres il suffit donc de calculer le rapport :

$$R X = \frac{h}{H}$$

où h = Hauteur de pic dû au sucre standard (ou de l'échantillon)

H = Hauteur de pic dû à l'étalon interne

et d'établir pour chaque sucre la courbe $RX = f(Cx)$ où $Cx =$ concentration de sucre.

Lors de l'analyse d'un mélange de sucre la concentration de chacun des sucres se calculera en se référant à la droite d'étalonnage.

I.3. APPLICATION AUX ÉCHANTILLONS

Introduire 10 g (ou 10 ml) d'échantillon dans une fiole jaugée de 50 ml. La dilution est effectuée avec de l'alcool méthylique anhydre afin de précipiter les matières colloïdales. Bien agiter et laisser reposer quelques heures au froid.

Dans une fiole de 5 ml à ouverture rodée, introduire successivement :

- 0,5 ml de la phase supérieure méthylique.
- 1 ml d'une solution de β phényl-D-glucopyranoside (25 mg/10 ml d'alcool éthylique).

Evaporer la solution méthylique sous vide et à basse température. Lorsque l'extrait alcoolique est bien sec, ajouter 250 μ l de pyridine et 500 μ l de BSTFA/HDMS. Boucher la fiole et porter à l'étuve à 80° C pendant 4 h. Le mélange est alors prêt à être analysé par chromatographie en phase gazeuse.

L'échantillon ainsi préparé se conserve plusieurs mois au réfrigérateur et plus d'une année au congélateur à -18° C.

I.4. ANALYSE DES ESTERS TRIMÉTHYLSILYLÉS PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

Nous avons utilisé une colonne en verre (\varnothing ext. = 1/8"), longueur = 2 m) remplie de gas-chrom Q 80/100 mesh imprégné de SE 30 à 3 p. 100.

Après injection (0,5 μ l), l'analyse s'effectue en programmation linéaire de température à partir de 120° C jusqu'à 275° C à raison de 2° C/mn.

Le gaz vecteur est de l'azote U, le débit à la sortie de la colonne est de 25 ml/mn.

Le détecteur est à ionisation de flamme. Les températures de l'injecteur et du détecteur sont respectivement fixées à 250° C et 280° C.

Les gaz alimentant le détecteur sont de l'hydrogène très pur (30 ml/mn) et de l'air comprimé (600 ml/mn).

Dans ces conditions nous avons obtenu des chromatogrammes identiques à celui représenté par la figure 1.

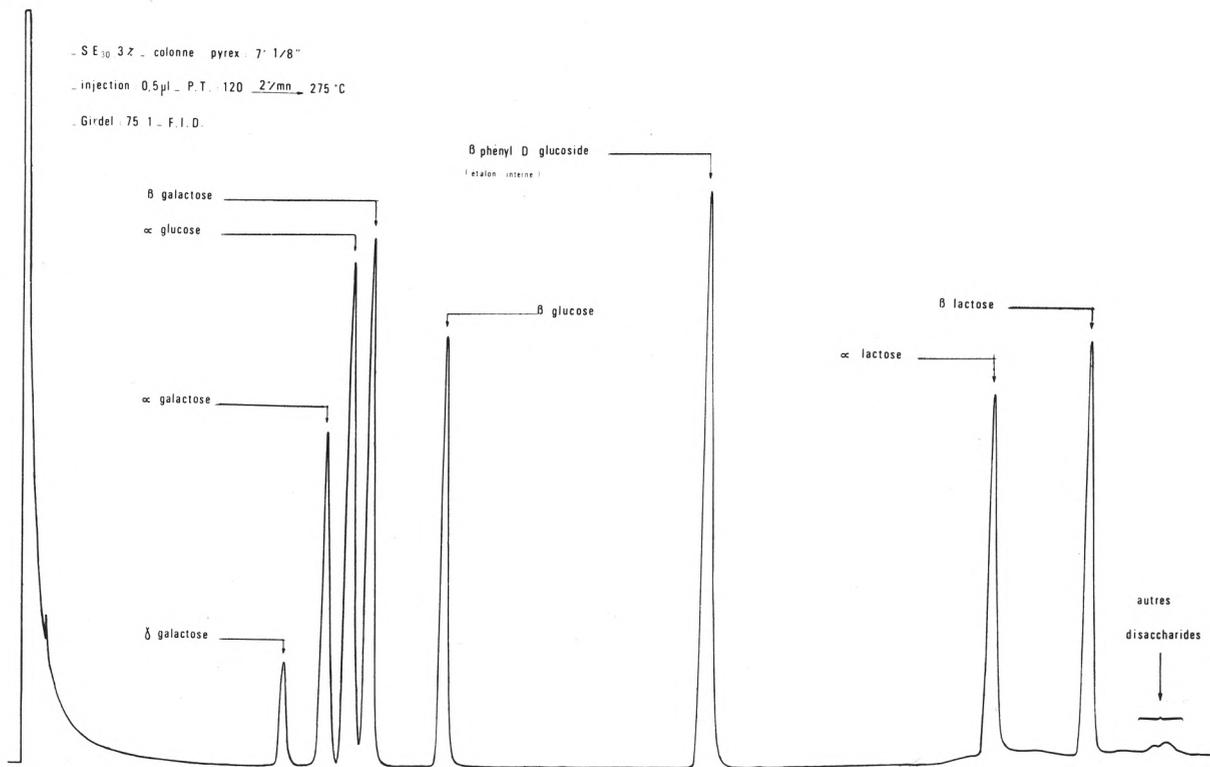


fig. 1

Séparation des sucres par chromatographie en phase gazeuse

II. HYDROLYSE DU LACTOSE PAR LA β GALACTOSIDASE DANS LES ULTRA-FILTRATS DE LACTOSERUM

II. 1. La β galactosidase

II.1.a. ORIGINES

La β galactosidase ou lactase, est une enzyme présentant une activité lactasique, capable d'hydrolyser le lactose en le transformant en glucose et en galactose. Cette enzyme se rencontre parmi les végétaux, dans le règne animal et chez certains micro-organismes.

Actuellement les techniques de production de cette enzyme s'effectuent à partir de certaines souches sélectionnées de *Saccharomyces torulopsis*, *Saccharomyces fragilis*, *Saccharomyces lactis*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*, etc.

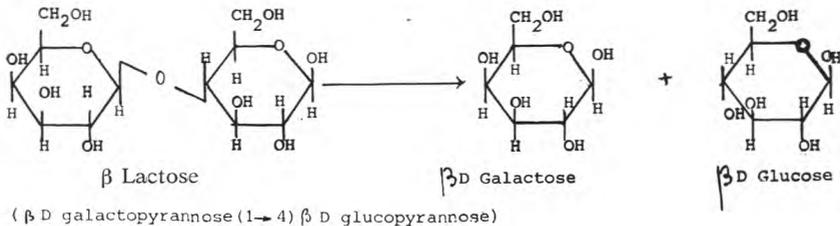
II.1.b. MODE D'ACTION

L'hydrolyse du lactose par la β galactosidase fait apparaître deux séries de produits :

a) Des sucres simples ou monosaccharides.

Ce sont :

- Les isomères α et β du D glucose.
- Les formes α ; β et γ du D galactose.



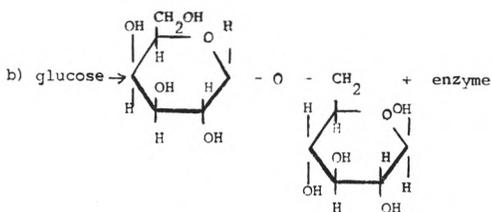
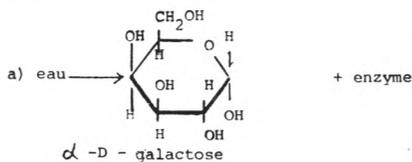
β) Des oligosaccharides (ou oligosides).

La formation d'oligosaccharides au cours de l'hydrolyse du lactose par la lactase a été étudiée par Pazur [13, 14]. La lactase peut être considérée comme un transporteur du radical galactosyl. En présence d'eau, les produits de la réaction sont le glucose et le galactose.

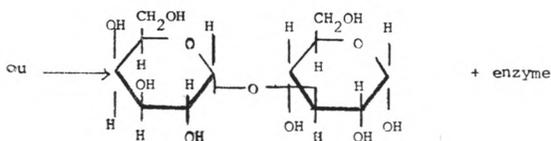
Si le radical galactosyl se fixe sur le glucose ou le galactose formé, il apparaît des disaccharides. Enfin si l'accepteur de galactosyl est le lactose, il se forme un trisaccharide (fig. 2).



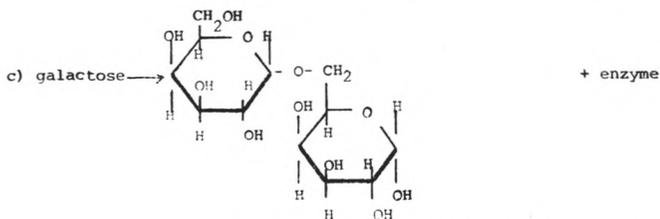
2. Galactosyl-enzyme + :



6.O.D. galactosyl-glucose (Melibiose)



3.O.D. galactosyl-glucose (disaccharide ou diholoside)



6.O.D. galactosyl-galactose (galactobiose)

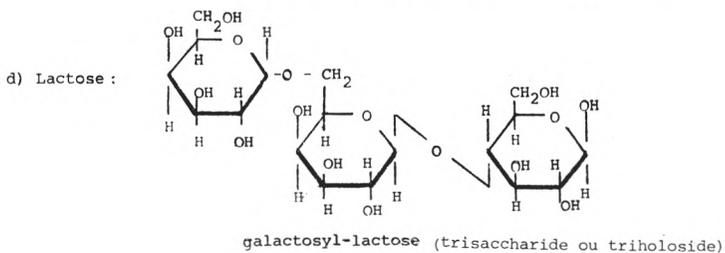


fig. 2

Formation des oligo-saccharides par action de la lactase sur le lactose

II.1.c. CONSÉQUENCE DE L'ACTION DE LA β GALACTOSIDASE

L'hydrolyse du lactose dans le lait ou les produits dérivés présente plusieurs avantages notamment sur les plans :

- *Alimentaire et nutritionnel* [2, 20] d'une part en alimentation humaine, en particulier pour les nourrissons alactasiques ou déficients en lactase, pour les enfants et les adultes de certaines régions du globe présentant une déficience génétique du caractère adaptatif de la sécrétion de lactase et pour les vieillards chez qui l'ingestion du lait entraîne des troubles digestifs qui seraient dus à la diminution du caractère inductible de la sécrétion de lactase. De plus l'hydrolyse du lactose confère au mélange un pouvoir sucrant plus élevé [4].

Sucres	Indices du pouvoir sucrant
— Lactose	20
— Mélange glucose-galactose	70
— Saccharose	100

D'autre part, en alimentation animale où, par l'utilisation de produits renfermant du lactose hydrolysé, il sera possible d'augmenter dans la ration la proportion de « sucres de lait » par rapport à celle du lactose, les sucres de lait étant assimilables par un grand nombre d'espèces.

Enfin en industrie de fermentation car le mélange glucose-galactose est facilement assimilable par de nombreux micro-organismes alors que la valeur biologique du lactose est plus limitée d'où possibilités plus importantes de production de biomasse ou de métabolites.

- *Technologique*

Les problèmes de macro-cristallisation du lactose et d'aspect sableux sont simplifiés dans la fabrication des laits concentrés ou non [9].

L'abaissement de la viscosité est appréciable dans la technologie des concentrés (laits ou lactosérum). Grâce à une pression osmotique plus élevée les concentrés se conservent plus facilement sans risque d'altérations dues aux micro-organismes.

En fromagerie et dans la technologie des laits fermentés, on a pu constater des effets stimulants pour la flore lactique, d'où un dévelop-

pement accru d'arômes spécifiques et des répercussions sur l'acidification, l'égouttage et la richesse en enzymes d'affinage [4].

• *Economique*

Des produits nouveaux et des produits de substitution peuvent être créés d'où de nouveaux débouchés par l'Industrie Laitière et une meilleure valorisation de ses sous-produits.

II.1.d. MESURE DE L'ACTIVITÉ DE LA β GALACTOSIDASE

L'activité de la lactase est souvent exprimée en unités ONPG dont la détermination repose sur le principe suivant : la β galactosidase hydrolyse l'O-nitrophényl D-galactopyrannoside (ONPG) en O-nitrophénol et galactose. La réaction peut-être arrêtée grâce à l'action inhibitrice du carbonate de sodium. La densité optique de l'O-nitro-phénol formé permet de mesurer l'activité de l'enzyme.

La cinétique enzymatique peut être effectuée par des méthodes :

— Titrimétriques utilisant la chloramine T.

— Enzymatiques à partir du galactose (ou du glucose) qui est oxydé en acide galactonique par le nicotinamide-adénine-di-nucléotide (NAD) en présence de la β galactose-déshydrogénase (Gal-DH).

TABLEAU 1

Comparaison des différentes méthodes de mesure de l'activité de la β galactosidase (d'après Olling)

Temps d'hydrolyse (heures)	Chloramine T (p. 100)	Glucose oxydase (p. 100)	Galactose déshydrogénase (p. 100)	Chromatographie en phase gazeuse (p. 100)
1	15	15	13	13
2	24	23	20	22
4	37	39	32	40
7	51	57	48	60
24	79	90	79	91
31	83	98	84	95
48	89	94	90	98

— Chromatographiques en phase gazeuse (Chap. I).

Olling [11] a comparé ces différentes méthodes, les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 1.

II.2. CONDITIONS EXPÉRIMENTALES

II.2.a. *Le matériel*

— Lactase : L'enzyme utilisée est une lactase produite à partir d'une souche de *Saccharomyces lactis*, par Gist Brocades-Delft (Hollande) ; son activité étant de 20 000 unités ONPG/g.

— Ultrafiltrats : Les ultrafiltrats sont obtenus par ultrafiltration du lactosérum. Les membranes à base de polymère de synthèse sont posées sur des supports poreux (tubes Abcor).

Les ultrafiltrats déminéralisés sont obtenus par ultrafiltration de lactosérum préalablement déminéralisé à l'aide d'une installation pilote du type « Aqualizer » mise au point par la Société de Recherches Techniques et Industrielles (S.R.T.I.).

II.2.b. *Les méthodes*

Au cours de cette première série de travaux, deux paramètres ont été retenus :

— La température.

— La minéralisation du filtrat.

Un litre d'ultrafiltrat amené à pH = 6,5 est additionné de 150 mg d'enzyme. La durée totale de l'hydrolyse est fixée à 24 h. Au cours de cette période huit prélèvements sont effectués au temps T = 0 - 1 - 2 - 3 - 4 - 8 - 12 et 24 h, afin de déterminer la cinétique enzymatique. Les différentes températures d'hydrolyse retenues sont 4° C - 15° C et 37° C.

Les déterminations du taux de sucres dans chacun des prélèvements sont réalisées par la méthode décrite précédemment (Chap. I).

II.3. RÉSULTATS (fig. 3) ET DISCUSSION

II.3.a. *Ultrafiltrat minéralisé*

L'hydrolyse du lactose est d'autant plus importante que la température est plus élevée. Le maximum d'activité se situant vers 35° C [4]. Après 10 h d'hydrolyse dans les conditions indiquées, 95 p. 100 du lactose est hydrolysé à 37° C, et à 4° C nous trouvons encore un taux d'hydrolyse de l'ordre de 50 p. 100.

II.3.b. *Ultrafiltrat déminéralisé*

Pour ce type de substrat, et quelle que soit la température, les taux d'hydrolyse sont très inférieurs (moins de 20 p. 100 après 24 h)

à ceux obtenus précédemment. Cela pourrait s'expliquer en grande partie par l'absence d'éléments minéraux activateurs tels que le potassium [4].

Nous constatons également qu'à 15° C, la cinétique enzymatique est relativement plus importante qu'à 37° C. Nous pensons qu'à cette dernière température il pourrait se développer rapidement une flore

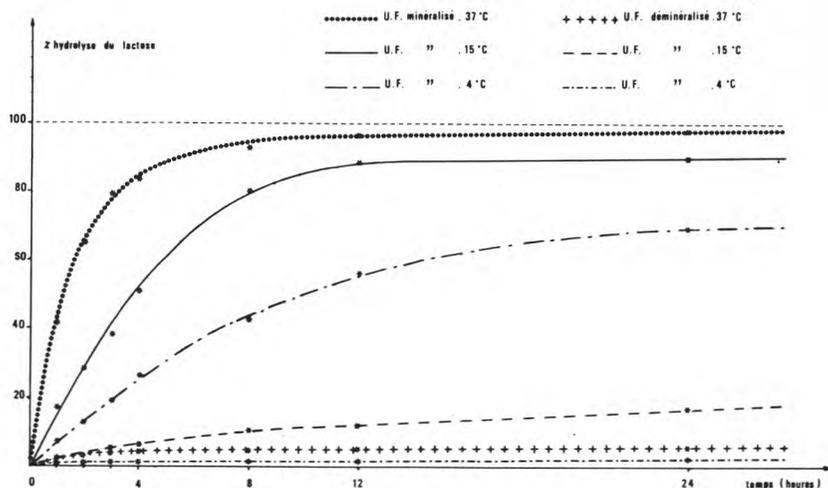


fig. 3

Taux d'hydrolyse du lactose en fonction du temps

acidifiante. Il en résulterait donc un abaissement du pH qui serait la cause de l'inhibition partielle de la β galactosidase [4]. Cette diminution du pH étant moins sensible à 15° C (développement ralenti de la flore acidifiante), on obtient donc à cette température, et pour un même temps, un taux d'hydrolyse supérieur à celui obtenu à 37° C.

Notons toutefois, que cette acidification du milieu à 37° C se produit également avec l'ultrafiltrat minéralisé, mais dans ce cas, l'hydrolyse du lactose est pratiquement totale (90 p.100) lorsque le pH devient défavorable et son effet inhibiteur ne peut être observé.

Signalons enfin que la quantité d'enzyme utilisée est relativement faible, il est bien évident que le rendement enzymatique sera

d'autant meilleur que la concentration en lactase sera plus importante [19].

III. EVOLUTION DU LACTOSE DANS LES YAOURTS

III. 1. Technologie du yaourt

La fabrication du yaourt est basée sur l'activité de deux ferments lactiques associés : *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*. *Lactobacillus bulgaricus* est une bactérie lactique homofermentaire se développant à 45° C - 50° C. Elle est très acidifiante et peut former jusqu'à 2,7 p. 100 d'acide lactique dans le lait. *Streptococcus thermophilus* est une espèce homofermentaire thermo-résistante, qui se développe bien à 37° C - 40° C et jusqu'à 50° C. Il joue un rôle essentiel dans la production d'arôme.

Dans le yaourt ces deux germes vivent en symbiose étroite. Le lactobacille, de par son activité protéolytique, enrichit le milieu en certains acides aminés activateurs du streptocoque. De même *Streptococcus thermophilus* stimule également *Lactobacillus bulgaricus* en produisant un métabolite qui peut être remplacé par de l'acide formique [23].

Après pasteurisation et homogénéisation, le lait entier, écrémé ou partiellement écrémé est enrichi en matière sèche (140-150 g pour le lait gras ou partiellement écrémé ; 100-110 g/l pour les laits maigres), soit par concentration, soit par addition d'une quantité convenable de poudre de lait écrémé.

Après chauffage et chambrage, le lait est refroidi à 45° C etensemencé à l'aide d'une culture de *Lactobacillus* et de *Streptococcus*, associés en quantité sensiblement égale. La dose de levain est de 2 à 3 p. 100. Après agitation, on répartit dans des récipients qui, après capsulage, sont maintenus 2 à 3 h dans une étuve à 40° C - 50° C. L'acidité atteint alors 80° D - 100° D.

A la sortie de l'étuve le yaourt est refroidi très rapidement au-dessous de 5° C afin de stopper l'acidification qui provoque la rétraction du caillé et la séparation du sérum.

On fabrique également des yaourts dits « brassés » la coagulation est alors réalisée en cuve et le conditionnement intervient après brassage (additions éventuelles de fruits, d'arômes ou de colorants).

Notons enfin que la fabrication du yaourt peut être conduite en continu. L'élément essentiel de l'installation étant une cuve d'ensemencement dans laquelle se trouve un levain dont les souches sont maintenues en phase de croissance logarithmique.

III. 2. Conditions expérimentales

Au cours de ce travail, nous nous sommes attachés à étudier l'évolution du lactose au cours de la fabrication et de la conservation des yaourts nature. Nous avons donc suivi des fabrications de ce type de yaourts en effectuant des prélèvements d'échantillons dans les conditions suivantes :

N° prélèvements	Nature des prélèvements
<i>Au cours de la fabrication</i>	
1	Lait de départ (avant addition ferments)
2	Lait de départ additionné des ferments (avant étuvage)
3	Laitensemencé, après 30 mn d'étuvage
4	Laitensemencé, après 1 h 30 mn d'étuvage
5	Yaourt en fin d'étuvage (2 h 30 mn)
6	Yaourt refroidi (T = O)
<i>Au cours de la conservation (stockage à + 10° C) :</i>	
7	T + 3 j
8	T + 7 j
9	T + 10 j
10	T + 14 j
11	T + 17 j
12	T + 21 j
13	T + 24 j (date limite de vente)

Chaque échantillon a été analysé selon la méthode décrite précédemment (Chap.I).

III. 3. Résultats

Les teneurs en lactose, galactose et glucose ont été déterminées dans chacun des échantillons (tab. 2). La figure 4 montre l'évolution, en pourcentage, de ces sucres, en fonction du temps.

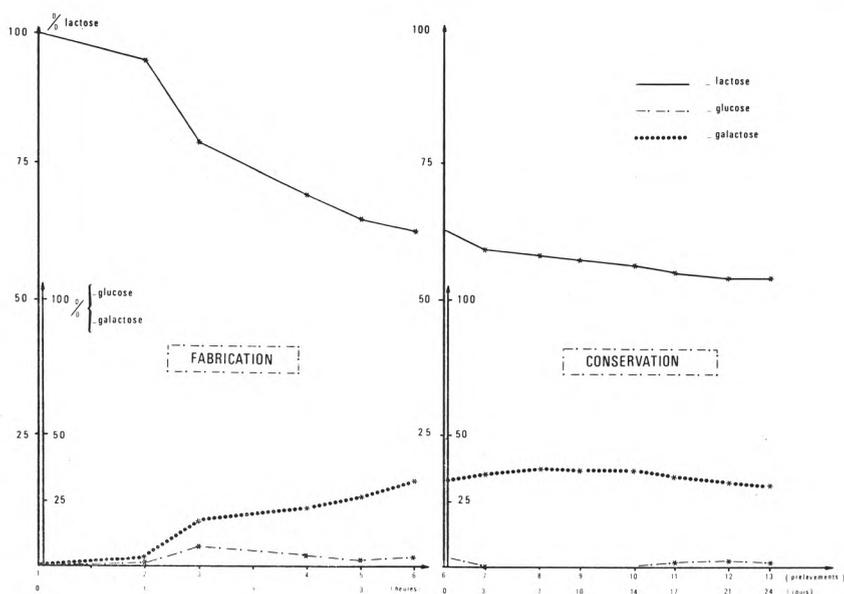


fig. 4

Evolution des sucres dans le yaourt nature

TABLEAU 2

Teneurs en lactose, galactose et glucose des yaourts au cours de leur fabrication et de leur conservation

N° prélèvements	Glucose (g/kg)	Galactose (g/kg)	Lactose hydraté (g/kg)
1	non décelable	non décelable	62,3
2	0,3	1,0	59,2
3	2,5	5,5	49,3
4	1,5	6,8	43,3
5	0,7	8,2	40,5
6	1,0	10,3	38,8
7	non décelable	11,0	36,7
8	non décelable	11,6	36,5
9	non décelable	11,5	35,8
10	non décelable	11,3	35,5
11	0,5	10,6	34,1
12	0,8	10,1	33,4
13	0,5	9,5	33,5

III. 4. Discussion

Vers la fin de la fabrication du yaourt, environ 35 p.100 du lactose a été hydrolysé en galactose et glucose, ce dernier étant assimilé par les ferments et transformé en acide lactique, ce qui provoque une accumulation du galactose dans le milieu (30 p.100 de la concentration maximale), alors que le glucose reste à un taux très inférieur (moins de 5 p.100 de sa concentration maximale). Signalons que ces résultats sont en parfaite concordance avec ceux obtenus par Goodenouch E. R. et Kleyn D. H. [5] qui ont utilisé la technique de chromatographie sur papier.

Au cours de la conservation des yaourts à + 10° C, l'activité des levains est ralentie. On observe toutefois une légère diminution du taux de lactose au cours du temps, et parallèlement une faible augmentation de la teneur en galactose, alors que le glucose n'apparaît plus. A partir du 14^e jour de stockage, la teneur en galactose, qui jusqu'alors atteignait un maximum dans le milieu (37 p.100 de la valeur maximale) décline peu à peu, alors que dans le même temps, on peut observer la réapparition des traces de glucose. Ces derniers résultats pourraient s'expliquer par une légère reprise d'activité des levains, qui, après 2 semaines d'adaptation à + 10° C, seraient en mesure de reprendre une certaine forme d'activité métabolique à partir du lactose, mais aussi du galactose qui pourrait être assimilé après transformation en glucose.

CONCLUSION

La technique de dosage des sucres, dans le lait et les produits laitiers, utilisée au cours de ces travaux, paraît être bien adaptée à l'étude de l'hydrolyse du lactose.

Notons que les sujets faisant l'objet de ce travail constituent plus une application de cette méthode d'analyse qu'une recherche exhaustive sur chacun d'eux. En effet, si l'étude de l'action de la β galactosidase sur le lactose a pu mettre en évidence des résultats appréciables concernant les deux paramètres retenus, il est bien évident que d'autres facteurs auraient pu être pris en considération.

Quant à l'étude du lactose dans les yaourts, elle a montré l'évolution de la fraction glucidique la plus importante du lait au cours de la technologie de ces produits et en particulier la présence dans les yaourts d'une quantité non négligeable de galactose provenant de l'hydrolyse d'une fraction importante du lactose originel. Cette hydrolyse partielle du lactose doit être en partie responsable de la plus grande digestibilité du yaourt par rapport au lait.

Enfin, il pourrait être envisagé, dans une deuxième série de travaux, après quelques modifications de cette technique analytique,

d'étudier l'évolution d'autres sucres, tels que le fructose et le saccharose, susceptibles d'être rencontrés dans ce type de produit.

Résumé

Une technique de dosage quantitatif des sucres par chromatographie en phase gazeuse a été adaptée aux produits laitiers. Cette méthode consiste à obtenir des esters triméthylsilylés de ces sucres, qui sont ensuite séparés par chromatographie en phase gazeuse à l'aide d'une phase stationnaire : SE 30, et analysés avec un détecteur à ionisation de flamme.

La technique proposée a permis, en particulier, en étudiant l'hydrolyse du lactose :

— D'une part, de déterminer l'activité de la β galactosidase, en fonction du temps, dans les ultrafiltrats de lactosérum, minéralisés ou non, à différentes températures et à pH de départ constant.

— D'autre part, de suivre l'évolution du lactose dans les yaourts nature au cours de leur fabrication et de leur conservation.

Summary

A technique for quantitative carbohydrate determination by means of gas-liquid chromatography was adapted to dairy products.

In this method carbohydrates are converted beforehand into their trimethylsilylethers. These ethers are injected into a gas chromatograph, separated on a SE 30 column and measured by a flame ionization detector.

This technique has permitted, by studying the lactose hydrolysis :

— On the one hand to determine β galactosidase activity into deionized or not whey ultrafiltrates at different temperatures but at constant starting pH values.

— On the other hand to follow the lactose evolution into yogurts during their manufacture and storage.

Reçu pour publication en octobre 1976.

Références bibliographiques

- [1] CASALIS (J.) (1975). — Facteurs technologiques influençant la consistance, la texture, l'arôme ou le goût du yaourt. *Ind. Alim. Agri.*, 92, 1253-1262.

- [2] CRAPLET (C.) (1971). — Aliments de régime pour l'enfance : intolérance au lait, intolérance au lactose dans : *Alimentation d'aujourd'hui et de demain*. Thèse de doctorat en Médecine, Paris. Ed. Vigot Frères, Paris (Chap. 13, 223-259).
- [3] DEVILLERS (P.), CORNET (C.) et DETAVERNIER (R.) (1974). — Dosage du saccharose et bilan du sucre. *Ind. Alim. Agr.*, 91, 833-839.
- [4] GIST-BROCADES nv industrial division. Delft - Holland - Maxilact. Doc. A-B-C.
- [5] GOODENOUGH (E. R.) and KLEYN (D. H.) (1976). — Qualitative and quantitative changes in Carbohydrates during the Manufacture of yogurt. *J. Dairy Science*, 59, (1), 45-47.
- [6] HADORN (H.), ZURCHER (K.) et STRACK (Ch.) (1974). — Dosage des sucres dans le miel par chromatographie en phase gazeuse. *Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, 65, (2), A 9 - A 14.
- [7] HAVERKAMP (J.), KAMERLING (J. P.) and Vliegenthart (J. F. G.) (1971). — Gas liquid chromatography of trimethylsilyl disaccharides. *J. Chromatography*, 59, 281-287.
- [8] JAKUBOWSKI (J.), GIACIN (J. R.), KLEIN (D. H.), GILBERT (S. G.), LEEDER (J. G.) (1975). — Effect of Ca, Mg and whey proteins on the activity of beta-galactosidase (*A. niger*) immobilized on collagen. *J. Food Science*, 40, (3), 467-469.
- [9] JOUANY (J. P.) (1972). — Chromatographie en phase gazeuse des oses, des di et triholosides dans les milieux complexes. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 12, (3), 493-504.
- [10] KISZA (J.), SWITKA (J.), KRUK (A.), SURAZINSKI (A.) (1973). — Essai d'utilisation de la bêtagalactosidase pour la fabrication du lait condensé sucré. *Le Lait*, 53, (527), 430-439.
- [11] NIELSEN (V. H.) (1974). — New products as well as new technology, aimed at better utilization of whey. *American Dairy review*, 36, (1), 8-10.
- [12] OLLING (C. J.) (1972). — Lactase. Treatment in dairy industry. *Ann. Technol. Agric.*, 21, (3), 343-356.
- [13] PASTORE (M.), MORISI (F.) and VIGLIA (A.) (1974). — Reduction of lactose of milk by entrapped betagalactosidase. Conditions for industrial continuous process. *J. Dairy Science*, 57, (3), 269-272.
- [14] PAZUR (J. H.) (1953). — Enzymatic conversion of lactose in galactosyl oligo-saccharides. *Science*, 117, 355-360.
- [15] PAZUR (J. H.) (1954). — The mechanism of enzymatic synthesis of galactosyl oligo-saccharides. *J. Biol. Chem.*, 208, 439-446.
- [16] PAZUR (J. H.), MARSH (J. M.) and TIPTON (C. L.) (1958). — Reversible transgalactosylation. *J. Am. Chem. Soc.*, 80, 1433-1438.
- [17] POMERANZ (Y.) (1964). — Lactase (beta-D-galactosidase). I. Occurrence and properties. II. Possibilities in the food industries. *Food Technology*, 18, (5), 88-101.
- [18] REINECCIUS (G. A.), KAVANAGH (T. E.) and KEENEY (P. G.) (1970). — Identification and Quantitation of free neutral carbohydrates in milk products by gas-liquid chromatography and mass spectrometry. *J. Dairy Science*, 53, (8), 1018-1022.
- [19] ROBERTS (H. R.) and Mc FARREN (E. F.) (1953). — The chromatographic observation of oligo-saccharides formed during the lactase hydrolysis of lactose. *J. Dairy Science*, 36, 620-627.
- [20] ROGER (L.), THAPON (J. L.), MAUBOIS (J. L.) et BRULE (G.) (1976). — Hydrolyse du lactose contenu dans l'ultra-filtrat de lait ou de lactosérum en réacteur enzymatique à membrane. *Le Lait*, 56, (551), 56-75.

- [21] ROSENSWEIG (N. S.) (1969). — Adult human milk intolerance and intestinal lactose deficiency. A review. *J. Dairy Science*, 52, (5), 585-591.
- [22] STIMPSON (E. G.) (1957). — Lactase - hydrolysed lactose in feed. *U.S. Patent*, 2, 781, 266.
- [23] STIMPSON (E. G.), STAN BERG (O. E.) (1956). — Conversion of lactose, galactose and sugars in the presence of lactase activators. *U.S. Patent*, 2, 749, 242.
- [24] VEISSEYRE (R.) (1975). — Technologie du lait. 3^e édit., Ed. *La Maison Rustique*, Paris (Chap. X, 330-333).
- [25] WENDORFF (N. L.), AMUNDSON (C. H.) and OLSON (N. F.) (1970). — The effect of heat treatment of milk upon the hydrolysability of lactose by the enzyme lactase. *J. Milk Food Technology*, 33, (9), 377-379.
- [26] WIERZBICKI (L. E.) and KOSIKOWSKI (F. V.) (1973). — Kinetics of lactose hydrolysis in Acid whey by betagalactosidase from *Aspergillus niger*. *J. Dairy Science*, 56, (11), 1396-1399.
- [27] WIERZBICKI (L. E.) and KOSIKOWSKI (F. V.) (1973). — Formation of oligosaccharides during betagalactosidase. Action on lactose. *J. Dairy Science*, 56, (11), 1400-1404.

Remerciements

Nous remercions la Coopérative « La Prospérité Fermière » qui nous a fourni à titre gracieux la β galactosidase et les ultra-filtrats ainsi que la Société « La Roche aux Fées » qui a bien voulu mettre à notre disposition les échantillons pour l'expérimentation sur les yaourts.
