leucocytaires soit inutile et restreindre en somme le rôle des leucocytes à l'enclavement purement mécanique des corps étrangers que représentent pour eux les globules gras situés dans leur voisinage.

Ch. PORCHER et L. PANISSET ont vu que les leucocytes qui interviennent après l'injection de lait sont des poly- et des mononucléaires, c'est-à-dire des micro- et des macrophages. Les polynucléaires prédominent quand le prélèvement est fait quelques heures après l'injection de lait, alors que ce sont les mononucléaires qui sont les plus nombreux quand les animaux sont sacrifiés au bout de 24 heures. Mais qu'il s'agisse de l'une ou de l'autre variété des leucocytes, toutes deux se montrent capables d'englober les globules graisseux du lait injecté. Les globules gras ne sont pas toujours distribués régulièrement dans le leucocyte, quelquefois ils sont peu nombreux, notamment lorsqu'ils sont gros ; d'autres fois, ils les bourrent au point d'en masquer le noyau, et les leucocytes ont alors tout à fait l'aspect des corpuscules mûriformes de Donnè — tels qu'on les rencontre dans le colostrum.

(A suivre.)

LA MÉTHODE SYNTHÉTIQUE DANS L'ÉTUDE DU LAIT. LE LAIT AU POINT DE VUE COLLOIDAL. RECHERCHES SUR LE MÉCANISME DE L'ACTION DE LA PRÉSURE

par Ch. PORCHER,

Docteur ès sciences physiques

(Suite)

CHAPITRE 1X

LES THÉORIES DE L'EMPRÉSURAGE

Nous disons *les théories*, et non *la théorie*, car les hypothèses qui ont été formulées pour expliquer le phénomène de l'emprésurage sont fort nombreuses.

La prise du lait en gel sous l'action de la présure est un phénomène biochimique banal, avons-nous déjà dit ; mais comme le font remarquer avec beaucoup d'a propos L. S. PALMER et G. A. RICHARDSON (192) : « les phénomènes biochimiques les plus communs sont souvent les plus difficiles à expliquer. Des vues totalement différentes sont données, ordinairement inconciliables, mais il est de règle qu'elles satisfassent chacun de leurs auteurs ».

Avant d'en arriver à l'exposé de nos recherches personnelles et à l'interprétation que nous croyons devoir leur donner, nous allons retenir les principales hypothèses, les confronter, les opposer les unes aux autres, et voir ce qu'elles ont d'acceptable ou d'illusoire.

HYPOTHÈSES PHYSIQUES ET HYPOTHÈSES CHIMIQUES.—Il importe de rappeler quels sont les éléments du lait qui jouent un rôle dans la coagulation par la présure ; ce sont : *la caséine, la chaux et l'acide phosphorique*. Or, si nous envisageons leur état physique, nous voyons qu'ils affectent tous trois l'état colloïdal. De là à faire intervenir celui-ci d'une façon dominante dans le mécanisme de l'emprésurage, il n'y a qu'un pas ; cela va de soi, dirons-nous même.

Les hypothèses à base physique se rattachent à une semblable conception. Nous aurons à les examiner un peu plus loin.

Mais les masses chimiques de la caséine, de la chaux et de l'acide phosphorique qui sont en parfait équilibre dans le lait lorsqu'il vient d'être sécrété peuvent, sous l'influence d'un processus nouveau : l'action de la présure, donner lieu à des interractions qui modifient tout à fait l'aspect originel de la liqueur. On oublie trop, comme on le verra tout à l'heure en dépouillant les différentes hypothèses physiques de l'emprésurage, que l'on fait intervenir un facteur nouveau : **le ferment-lab**. *Ce n'est pas un élément indifférent qu'on introduit dans le lait*. Comme ferment, il va exercer une action qui, en dernier ressort, est chimique. La négliger, c'est faire bon marché de la réaction essentielle de l'emprésurage, c'est fermer les yeux à l'évidence, puisque sans présure, il n'est pas de gélification. Le bon sens, en dehors de tous autres moyens d'investigation, nous met dans la nécessité d'admettre que la présure est l'agent qui déclanche le phénomène. Mais de quelle façon ? Voilà où les divergences se dessinent.

Jusqu'ici, nous sommes habitués à considérer d'une manière générale les ferments comme des *catalyseurs chimiques*. Pourquoi la présure ferait-elle exception ? Pourquoi, ainsi que nous le verrons plus loin, ne serait-elle là que pour provoquer une floculation des micelles caséiniques conduisant au gel, n'amener en somme dans la caséine qu'une modification physique ?

Dès l'instant où nous admettons qu'à l'origine de l'emprésurage se trouve une réaction chimique déclanchée par le ferment-lab, nous devons nécessairement envisager la grandeur des masses en présence qui interviennent : *caséine, chaux et acide phosphorique*. Et c'est dans l'analyse poussée aussi loin que possible de l'importance de ces masses que nous trouverons la base la plus solide des hypothèses de nature chimique sur l'emprésurage.

Si les hypothèses d'ordre physique qui empruntent leur principal à l'état colloïdal ont quelque chose de séduisant, — et nous-même, nous n'avons pas échappé à leur emprise, — par contre, il faut reconnaître ce qu'elles contiennent d'incomplet et de nébuleux. Sans nous préoccuper pour l'instant de savoir comment, avec elles, la présure provoque la prise en gel du lait, nous ne devons pas oublier que la floculation reste le phénomène apparent. Or, cette floculation qui conduit à la

précipitation, au gel, au caillé, est-elle indispensable ? Caractérise-t-elle au fond l'action de la présure ? Si la réponse est positive, les hypothèses à base physique peuvent avoir quelque vraisemblance ; mais si elle est négative, avouons, d'ores et déjà, que l'on peut s'en passer.

Les théories colloïdales de l'emprésurage exigent, du moins certaines d'entre elles, que l'on s'intéresse fatalement à la question de *protection*. Or, fait curieux, les théories chimiques qui s'inspirent toutes, reconnaissons-le dès maintenant, de l'hypothèse depuis longtemps formulée par O. HAMMARSTEN, ne peuvent pas manquer, elles non plus, de faire entrer en jeu la protection d'un colloïde par un autre. Nous l'avons signalé déjà à maintes reprises, et nous le verrons encore mieux dans certaines des pages qui vont suivre.

La protection est un phénomène de nature physique, d'explication parfois difficile, mais dont on ne saurait nier les conséquences. Il est intéressant de constater qu'elle jette en quelque sorte un pont entre les deux systèmes des hypothèses invoquées pour expliquer l'action profonde de la présure.

Dans cet historique que nous voulons tenter du mécanisme de l'emprésurage, nous aurions pu suivre l'ordre chronologique ; nous avons préféré procéder autrement et marquer de suite, en invoquant certaines considérations capitales, quelle était l'opposition des deux genres de conceptions dont nous allons parler. Toutefois, il peut encore paraître utile de montrer tout ce qu'avait d'erroné les premières explications tentées du phénomène.

Les premières hypothèses. — C'est un fait d'observation courante que le lait coagule dans l'estomac des animaux supérieurs en gros blocs, c'en est un autre qu'un extrait aqueux ou glyciné de la couche interne de l'estomac du veau provoque dans le lait la formation de grumeaux qui se soudent en donnant ce que nous appelons aujourd'hui un *gel*. Cette réaction a été utilisée depuis un temps immémorial pour la fabrication du fromage.

C'est FRÉMY (248) qui se lance le premier dans l'explication du phénomène. Pour lui, l'extrait de la muqueuse de l'estomac du veau convertirait le lactose en acide lactique.

LIEBIG (249) adopte la même façon de voir. L'acide lactique s'emparerait des bases du lait qui tiennent la caséine en suspension et libèrerait ainsi la caséine de toute union saline, ce qui engendrerait sa précipitation sous forme d'un caillé.

SOXHLET (250) rapproche la coagulation du lait par la présure de

(248) E. FRÉMY. — Umwandlung von Zucker, Mannit, Milchzucker, Dextrin u.s.w. in Milchsäure. *Ann. der Pharm.* (Liebig) 1839, **31**, 188-190.

(249) LIEBIG. — Voir PLIMMER, *Fermentations*, Londres 1903, 110.

(250) SOXHLET. — Beiträge zur physiologischen Chemie der Milch. *Jour. für Prakt. Chemie* 1873, n.F. **6**, 33.

la coagulation par les acides, mais il reconnaît cependant que la première est beaucoup plus rapide que la seconde.

Jusqu'ici les auteurs, bien que de qualité, se trompaient étrangement sur la nature de l'emprésurage. Faut-il en être surpris ? Nous ne le pensons pas puisque la confusion que des chimistes comme FRÉMY et LIEBIG établissaient entre la coagulation par les acides et par la présure s'observe encore aujourd'hui chez beaucoup d'auteurs. Or, nous ne saurions la trouver dans l'enseignement des faits les mieux assis de la chimie et de la biochimie.

Un pas important est fait par HEINTZ (251) qui montre que l'*extrait aqueux de la muqueuse de l'estomac du veau caille le lait en solution neutre et même légèrement alcaline*, la réaction étant déterminée ici par le tournesol, l'indicateur coloré qu'on utilisait couramment à ce moment. De cette observation capitale, il résulte qu'il ne faut pas invoquer la forte acidité du milieu dans l'action de la présure et que les deux processus que l'on confondait devaient être très distincts dans leur essence.

O. HAMMARSTEN (252, 253), il y a déjà plus de cinquante ans, montre le premier, que la coagulation du lait par les extraits de muqueuse de l'estomac du veau est *due essentiellement à la présence dans ce dernier d'un ferment soluble auquel il donna le nom de ferment-lab ou de chymosine*.

Remarquons qu'à ce moment — nos connaissances sur les colloïdes étaient alors autrement plus réduites qu'aujourd'hui — HAMMARSTEN n'échappa pas tout au début à l'emprise des théories colloïdales. Il exprima, en 1874, l'opinion que la présure détruit quelque chose qui tient en suspension ce que nous appelons aujourd'hui le complexe caséinate de calcium + phosphate de calcium. La question de protection se trouve nettement indiquée dans cette théorie, la première qui soit purement colloïdale. C'est devant son insuffisance que HAMMARSTEN en vint à une théorie chimique, laquelle par la suite, a été la plus largement acceptée.

Les points essentiels de la théorie de O. Hammarsten. —

J. H. KASTLE et N. ROBERTS (254) dans le bon historique qu'ils font de la coagulation du lait par la présure exposent très clairement

(251) W. HEINTZ. — Ueber die Ursache der Coagulation des Milcheasein durch Lab und über die sogenannte amphotere Reaction. *Journ. für Prakt. Chem.*, 1873, n.F. 6. 374-394.

(252, 253) O. HAMMARSTEN. — Ueber die Milchgerinnung und die dabei wirkenden Fermente der Magenschleimhaut. *Maly's Jahresberichte f. Tierchem.*, 1872, 2. 118.

Ueber den chemischen Verlauf bei der Gerinnung des Caseins mit Lab. *Maly's Jahresberichte f. Tierchem.*, 1874, 4. 135

(254) J. H. KASTLE et N. ROBERTS. — *The Chemistry of Milk*, article de « Milk and its relation to the public Health ». Bull. n° 56, 2^e édition du Bull. n° 41, revu et considérablement augmenté de *Hygienic Laboratory, Public Health and Marine-Hospital Service of U. S. A.* 1909, p. 348-359.

l'essentiel de la théorie chimique de l'emprésurage de HAMMARSTEN, et nous ne saurions mieux faire que de leur emprunter.

HAMMARSTEN montra :

1° *Que la coagulation du lait par la présure est indépendante de l'action de l'acide lactique ;*

2° *Que la caséine du lait n'est pas en véritable solution dans le lait, mais en suspension colloïdale (état gonflé : gequollenen Zustande).*

3° *Que sans la présence d'une quantité suffisante de phosphate de calcium, la coagulation par la présure n'a pas lieu.*

4° *Que la caséine est si modifiée par l'action de la présure qu'en présence d'une certaine quantité de sels calciques, elle ne peut plus rester en solution et qu'elle précipite pour donner le fromage (Käse), composé de paracaséinate et de phosphate de calcium.*

5° *Que le résultat de l'action de la présure est de dédoubler la caséine en au moins deux nouvelles protéines : la paracaséine, ou plus exactement l'association du paracaséinate et du phosphate de calcium qui précipite, et une autre très soluble qui reste en solution, la protéine du sérum (Molkenweiss).*

Les deux phases distinctes. — Pour lui, la coagulation du lait par la présure se résoud en deux phases distinctes :

a) *La transformation de la caséine en paracaséine ;*

b) *La précipitation de la paracaséine en présence des sels de calcium.*

Fait des plus importants, ce savant observa que *la seconde phase de la coagulation est indépendante de l'action de la présure.*

Relevons, dès maintenant, ce qu'il y a d'essentiel dans les conclusions de HAMMARSTEN :

1° *L'emprésurage peut se faire en milieu neutre ;*

2° *Il est nécessaire que du phosphate de calcium soit présent pour la coagulation ;*

3° *L'acte essentiel de la présure est de dédoubler la caséine en paracaséine et en protéine soluble. Mais il n'y a pas de précipitation, c'est-à-dire pas de flocons précédant le gel, si les sels de chaux ne sont pas en quantité suffisante.*

Cette dernière remarque entraîne deux conséquences importantes que nous devons souligner sans tarder :

α - **C'est que la floculation à laquelle les théories colloïdales attachent tant d'importance n'est pas l'essentiel du processus biochimique provoqué par la présure.** Ceci nous aurons à le montrer à maintes reprises dans les pages qui suivront.

β **C'est qu'il faut une masse déterminée de sels calciques pour précipiter la paracaséine.**

Cette *notion de masse* que nous avons mise en valeur déjà dans la précipitation du caséinate de calcium par les sels calciques solubles,

en dehors de toute action de la présure, nous la retrouvons dans l'empresurage. C'est la paracaséine qui sera visée cette fois ; tout à l'heure, c'était la caséine.

Lorsqu'on empresure du lait, il y a toujours suffisamment de sels de calcium dans la liqueur pour provoquer la précipitation de la paracaséine, et voilà pourquoi la notion de l'importance de la masse des sels calciques nécessaires avait pu échapper. Mais si nous faisons appel à des systèmes synthétiquement préparés dont nous pouvons déterminer à l'avance les relations des masses agissantes, il nous sera facile de mettre en relief la donnée que nous venons d'évoquer.

Puisqu'un système : caséinate calcique + un sel calcique, qui est stable, ne l'est plus après action de la présure laquelle détermine une précipitation, nous sommes *a priori* fondé à dire que la paracaséine est plus sensible vis-à-vis des sels calciques que la caséine, puisqu'elle précipite là où la caséine ne précipite pas.

LA FORME DES SELS CALCIQUES NÉCESSAIRES : SOLUBLES OU INSOLUBLES ? — Lorsque nous avons parlé de sels calciques, nous n'avons pas agité la question de savoir quelle était la forme qu'ils devaient avoir. Sont-ce des sels insolubles ? Sont-ce des sels solubles ?

HAMMARSTEN réclame la présence de *phosphate de calcium*, et tout de suite, devant l'insolubilité de ce sel, l'idée vient qu'il est nécessaire pour l'empresurage qu'à côté du caséinate de calcium se trouve du phosphate de calcium insoluble.

Beaucoup des expérimentateurs qui ont suivi HAMMARSTEN en cherchant à entrer plus profondément dans le détail des faits relevés par ce savant ont pensé également à la nécessité des sels insolubles. Nous-même leur avons fait jouer un rôle essentiel, ainsi qu'il sera montré plus loin ; mais d'autres expériences réclamées par la dissection de toutes les phases du processus labique nous ont fait abandonner nos explications premières à base colloïdale et nous ont ramené, sinon à la théorie de HAMMARSTEN tout entière, du moins, à son essentiel. Nous verrons, en effet que nous sommes conduit à admettre que la présure dédouble bien la caséine en deux morceaux d'importances pondérales très diverses, que le plus gros, qui représente environ les 19/20 de la molécule originelle, précipite aisément par les sels calciques, *mais qu'il est indispensable que ceux-ci se présentent sous une forme soluble* ; une masse déterminée est donc exigible pour la précipitation.

Nous pourrions maintenant rappeler les principaux travaux qui, à la suite de ceux de HAMMARSTEN, tendent à justifier l'hypothèse chimique de celui-ci. Nous croyons qu'il est préférable d'en reporter l'examen un peu plus loin, lorsque nous aurons fait un exposé détaillé des théories physiques ; si nous les laissons de côté, en quelque sorte délibérément, nous aurons toutefois à leur emprunter des enseignements utiles, notamment en ce qui concerne le jeu de la protection.

Mais encore faut-il ne donner à celle-ci rien que la place qui lui revient. La démarcation tranchée qu'on voudrait établir entre les hypothèses de nature physique et celles de nature chimique n'est plus aussi nette après l'examen de quelques-unes d'entre elles. Il en est qui combinent en quelque sorte une action chimique d'origine labique avec des phénomènes physiques colloïdaux que la protection nous fait évoquer.

Dans le travail de PALMER et RICHARDSON (202) nous trouvons un excellent exposé des théories colloïdales de l'action de la présure, et de même que nous avons emprunté plus haut au travail de KASTLE et de ROBERTS, nous ne saurions mieux faire que de nous laisser conduire, du moins une partie du chemin, par PALMER et RICHARDSON.

Dès l'instant que la caséine n'est pas en solution vraie dans le lait de vache, mais qu'elle y existe sous forme de micelles de caséinate de calcium, c'est-à-dire en *suspension*, — la preuve en a été faite dans la première partie de ce travail —, *il suffit que cette suspension de stable qu'elle était devienne instable, que les micelles invisibles se soudent pour donner des flocons visibles, lesquels à leur tour s'unissent en donnant le gel, pour que se déroule ainsi toutes les phases de l' emprésurage*. Mais si c'est bien dans cet ordre que semblent se suivre les phases du phénomène, reste toujours la question de savoir quoi déclanchera cette soudure micellaire, cette floculation aboutissant au gel ? L'impression que beaucoup d'auteurs ont eue, à commencer par HAMMARSTEN, ainsi que nous l'avons vu plus haut, c'est la surprise de voir la magnifique gélification se produire aussi rapidement par une trace de ferment. Evidemment, le lait renferme en puissance, avant l'addition du lab, tout ce qu'il faut pour donner le caillé, mais le processus se poursuit parfois avec une vitesse telle, sous l'action d'une quantité presque impondérable de présure, que l'on est porté à douter qu'une réaction fermentaire ait pu se produire. En tout cas, si elle prend place dans le processus, elle peut ne pas être le stade essentiel dans l'hypothèse que nous soulevons. En d'autres termes, les éléments qui donnent le gel sont toujours prêts à précipiter, mais quelque chose les en empêche ; il suffit de le détruire pour que le lait fasse prise. N'est-ce pas là d'ailleurs la première opinion exprimée par HAMMARSTEN (13). *Elle laisse déjà sous-entendre évidemment que ce qui doit précipiter est protégé dans le lait et que la présure détruit cette protection*.

Les théories dans lesquelles on fait intervenir la protection. — Beaucoup plus tard, ALEXANDER (206, 207, 207, 209) exprime une théorie semblable à celle que HAMMARSTEN avait énoncée en premier, avant qu'il n'en vint lui-même à sa théorie chimique, mais il utilise maintenant le langage de la chimie colloïdale. Pour lui, *la protection exercée sur les éléments essentiels qui jouent dans l' emprésurage serait due à la lactalbumine*. La lactalbumine, colloïde réversible, aurait la propriété de

protéger de la coagulation le caséinate de calcium, colloïde irréversible. Que son action protectrice soit détruite et le colloïde irréversible coagule.

La présure s'attaquerait donc à la lactalbumine dont elle détruirait l'effet protecteur et, dans ces conditions, le caséinate de calcium n'étant pas protégé précipiterait en entraînant avec lui le phosphate de calcium. Nous devons conclure qu'il n'y aurait nulle différence dans la caséine avant et après la précipitation, puisque le processus labique ne ferait pas porter son action sur elle.

Les recherches d'Alexander. — Nous jugerons tout ce qu'a d'inexact l'hypothèse d'ALEXANDER, mais il importe cependant de voir comment cet auteur en est arrivé à la formuler. Il y a été conduit par des considérations dont on ne saurait contester le fond et qui résultent des expériences qu'il a faites sur la protection exercée par la gélatine sur l'or colloïdal et sur le chlorure d'argent. Il suffit, en effet, de provoquer la formation de chlorure d'argent au sein de la gélatine pour éviter tout précipité. Le chlorure d'argent est cependant formé, mais au lieu d'affecter l'aspect cailleboté bien connu, il n'est, au sein de la gélatine, qu'un hydrosol opalescent dans lequel les particules du gel sont divisées à l'infini, puisqu'elles traversent le filtre de papier.

J. ALEXANDER et J. BULLOWA (255) pour passer de la protection du chlorure d'argent par la gélatine à celle qu'exercerait selon eux la lactalbumine sur le caséinate de calcium, s'arrêtent à un terme intermédiaire : le lait de femme.

Quand on ajoute au lait de vache une certaine proportion d'un colloïde protecteur comme la gélatine, la gomme arabique ou des gruaux de céréales, le lait ainsi traité ne caille pas aussi bien, par les acides ou par la présure, que le lait non traité. Si le lait de femme ne coagule pas par les acides ou par la présure comme le lait de vache, c'est parce que son caséinate est fortement protégé.

Tous ces rapprochements semblent au premier abord fort logiques. Le tout se tient, mais ce n'est qu'en apparence.

La première objection que l'on peut adresser à ALEXANDER et BULLOWA, objection capitale que nous avons déjà formulée antérieurement en nous réservant d'y revenir en détail, c'est qu'il n'est nul besoin de lactalbumine pour protéger la caséine, ou ce qui est plus exact, le caséinate de calcium. La classification des colloïdes réversibles et irréversibles telle que la conçoivent ALEXANDER et BULLOWA ne tient point. Le caséinate de calcium est un colloïde réversible tout aussi bien que la lactalbumine, et même beaucoup moins sensible que lui à l'action de la chaleur. Il ne coagule pas par la chaleur comme la lactalbumine. On peut le dessécher sans précautions spéciales et il ne perd pas

(255) J. ALEXANDER et J. BULLOWA. — « Protective » action of the colloids in milk, with some ultramicroscopic observations. *Archives of Pediatrics*, 1910, 27, 18 et *New-York Academy of Medicine*, Section on Pediatrics, 9 Décembre 1909.

la propriété de se redissoudre dans l'eau. Le caséinate de calcium n'a donc nullement besoin d'une action protectrice pour se stabiliser. Nous rappellerons que lui-même est un colloïde protecteur particulièrement intéressant vis-à-vis des graisses, des sols d'or, et enfin ce qui est plus important dans notre étude, des phosphates insolubles de calcium.

Nous estimons avec PALMER et RICHARDSON que l'assertion d'ALEXANDER, selon laquelle l'addition de colloïdes protecteurs au lait de vache le stabilise et fait qu'il se comporte comme le lait de femme quand on le traite avec des acides ou avec la présure, n'est basée seulement que sur des observations, relatives à l'addition de gélatine ou de gomme, résultant d'examen macroscopiques et ultra-microscopiques, et que les conséquences de semblables études ne peuvent guère s'appliquer au lait de vache non dilué traité, par la gélatine.

Nous aurons l'occasion un peu plus loin de faire allusion aux recherches d'ordre synthétique que nous avons entreprises sur le lait de femme, et nous montrerons que si son caséinate de calcium ne précipite pas par les acides ou la présure, comme dans le lait de vache, cela tient à de nombreuses raisons : taux faible de la caséine, taux plus faible encore de la chaux, et aussi à la protection exercée, non plus par la lactalbumine, mais par la *lactoglobuline*. En tout cas, *si cette protection trouble objectivement l'emprésurage, elle n'intervient point dans l'essentiel de ce processus* : la décomposition de la caséine en ses deux morceaux, la paracaséine et l'albumine du sérum.

On voit donc que la théorie d'ALEXANDER, — et il en est ainsi de certaines autres théories colloïdales — n'est basée que sur des apparences ou des à côtés.

SCHRYVER (256) énonce une théorie quelque peu semblable à celle d'ALEXANDER. Pour lui, « dans le lait, les matériaux nécessaires pour la formation du caillot préexistent, mais leur agrégation est empêchée par l'adsorption de molécules plus simples du système et la fonction de la présure est de libérer la surface de substances comme la caséine de ces corps adsorbés, et alors l'agrégation peut avoir lieu ».

En somme, la présure nettoie, balaie en quelque sorte la surface de la caséine et lui enlève ce qui peut l'empêcher de s'agréger.

On voudra bien reconnaître avec nous ce que cette théorie a d'imprécis pour ne pas dire plus, car SCHRYVER l'appuie sur des faits qui n'ont rien à voir avec elle : le premier, que les solutions de caséinate de calcium additionné de CaCl_2 , sans cependant que l'on obtienne une coagulation par chauffage, donnent un caillé par addition de présure ; le second que si la concentration du CaCl_2 est assez forte pour donner un coagulum quand on l'ajoute à du caséinate de calcium ou de sodium, elle ne donne

(256) S.B. SCHRYVER. — Some Investigations on the Phenomena of "Clot" Formations, Part. I. On the Clotting of Milk. *Proc. Roy. Soc. (Lond)*, Sér. B. — 1913, **86**, 460-481.

rien en présence de sérum du lait, de peptone de WITTE et de glycérine, tandis que par addition de la présure, la coagulation a lieu.

Les faits ne sont pas niables, leur interprétation est contestable. S'il est bien vrai que le sérum du lait ou la peptone peut jusqu'à un certain point empêcher la précipitation du caséinate par un excès de CaCl_2 , on comprend fort bien que cette protection cesse en présence de la présure, car nous n'avons pas affaire à des phénomènes comparables. Dans le premier cas, il s'agit de la précipitation du caséinate par le CaCl_2 qui réclame des quantités assez fortes de ce dernier sel ; dans le second cas, la présure donne de la paracaséine qui précipite beaucoup plus aisément en présence des mêmes doses de CaCl_2 , sans qu'on ait à faire jouer un rôle protecteur suffisamment efficace au susdit sérum ou à la susdite peptone de WITTE. Et la meilleure preuve, c'est que SCHRYVER lui-même est bien obligé de reconnaître que si certains faits appuient son hypothèse, il en est d'autres qui s'y opposent fortement, à commencer par celui que nous avons évoqué tout à l'heure, que la caséine, lorsqu'on la précipite par addition d'un excès de CaCl_2 au lait conserve ses propriétés originelles, tandis que lorsqu'elle a été coagulée par la présure, elle les a perdues ; elle ne peut plus être re-coagulée à nouveau. Nous reviendrons plus loin sur cette importante notion de la non identité de la caséine et de la paracaséine sur la base du fait que nous venons de relever.

Si nous nous reportons à nouveau vers la théorie de HAMMARSTEN, nous apprécierons les raisons pour lesquelles nous avons procédé, comme il a été dit, à l'étude de cet historique. Nous savons qu'il y a deux stades dans l' emprésurage : le premier, *l'essentiel*, la décomposition de la caséine en paracaséine et protéine du sérum ; le deuxième : la précipitation de la paracaséine en présence d'une masse suffisante de sels calciques. Les théories colloïdales ont tantôt englobé les deux stades, tantôt visé l'un plutôt que l'autre, et c'est surtout au second qu'elles se sont plus particulièrement appliquées, c'est-à-dire à celui qui n'est pas essentiel dans l' emprésurage.

LOEVENHART (257) sur le travail duquel nous reviendrons un peu plus loin estime que la présure en unissant les particules de caséine pour donner de la paracaséine, détermine aux dépens des premières la formation d'un colloïde moins hautement dispersé. En somme, il admettrait que la paracaséine est d'un degré de condensation plus élevé que la caséine, et il ne ferait jouer à la présure aucun rôle chimique de dédoublement.

C'est tout le contraire qu'admet LAQUEUR (258, 259). Pour lui, la para-

(257) A. S. LOEVENHART. — Ueber die Gerinnung der Milch. *Zeitschr. für physiol. Chem.* 1904, **41**, 177.

(258). — E. LAQUEUR. *Ueber das Kasein als Säure und seine Unterschiede gegen das durch Lab veränderte (Parakasein) — Theorie der Labgerinnung* — Thèse Doct.-Med. Breslau 1905.

(259) LAQUEUR. — Ueber die Wirkung der Labfermente auf Milch und Kasein. *Biochem. Centralblatt.* 1905-1906, **4**, 333.

caséine serait plus hautement dispersée que la caséine en raison du clivage de celle-ci.

INICHOFF (260) parle également en physicien, et fait jouer à la dispersion de la caséine un rôle essentiel. Pour lui, le degré de dispersion peut modifier la solubilité de la molécule. Il s'est employé à suivre le dédoublement labique de la caséine par une détermination de l'acidité en faisant appel à certaines méthodes physiques les plus précises : détermination du pH , de la conductibilité électrique, et ne semble pas trouver de différence, du fait des faibles oscillations des données enregistrées. Pour lui, « la présure n'exerce aucune réaction chimique, mais une simple action physique : la scission de l'agrégat des substances albuminoïdes, et la précipitation subséquente par suite d'une modification dans le degré de dispersion sous l'action du ferment en présence de métaux bivalents et d'ions H ».

Selon MELLANBY (261), la présure dénature les propriétés hydrophiles de la caséine, ce qui amène une modification de son état physique ; d'émulsoïde qu'elle est, elle est transformée en *suspensioïde* ; la paracaséine. L'hydratation des particules de paracaséine serait particulièrement faible, ce qui causerait leur visibilité, et il faudrait admettre que la présure aurait pour but de nettoyer la surface des particules de caséine de l'eau qu'elle adsorbe en excès.

On ne peut pas admettre que l'action deshydratante provoquée par la présure puisse être permanente. Or, comme la paracaséine ne peut pas coaguler à nouveau par la présure, les vues ingénieuses de MELLANBY ne sauraient être acceptées.

La conception de MELLANBY se rapproche singulièrement de celle de SCHRYVER. Dans les deux, la présure nettoierait la surface des particules de caséine, d'un composé indéterminé pour SCHRYVER, de l'eau en excès pour MELLANBY.

En résumé, tous les auteurs qui ont cherché à expliquer le premier stade de l'emprésurage, c'est-à-dire la formation de paracaséine aux dépens de la caséine en s'appuyant uniquement sur des théories colloïdales ne semblent avoir abouti qu'à des hypothèses sans consistance, manquant souvent de clarté. En face de modifications chimiques indéniables, de la nécessité évidente d'ions Ca et d'ions H , ils ont cherché parfois dans leur interprétation à mêler tous les facteurs qui interviennent, mais trop souvent ils l'ont fait d'une façon obscure.

Pour E. DUCLAUX (262), la coagulation par le lab serait un phénomène purement physique d'adhésion moléculaire.

Nous savons que E. DUCLAUX se basait, pour ainsi conclure, sur

(260) G. S. INICHOFF. — Ueber die chemische Wirkung des Labfermentes. *Biochem. Zeitschr.* 1922, **131**, 97.

(261) J. MELLANBY. — *Proceed Physiol. Soc., J. Physiol.*, 1921, **54**, 116.

(262) E. DUCLAUX. — *Traité de microbiologie*, 1899, **2**, 291.

l'analyse des filtrats obtenus par le passage du lait frais et du lait coagulé par la présure à travers des bougies de porcelaine. La composition du sérum n'ayant pas été trouvée altérée en aucune manière, E. DUCLAUX était amené à nier le dédoublement de la caséine en paracaséine et en albumine du sérum, protéine soluble.

Nous avons fait la critique antérieurement de cette façon de voir en montrant tout ce qu'avait d'incomplet et de déroutant parfois l'emploi des bougies en porcelaine.

ARRHENIUS (263) était d'ailleurs d'avis que l'expérience de DUCLAUX n'était nullement convaincante, puisque les protéines du sérum pouvaient avoir été retenues dans le filtre de porcelaine, plus spécialement encore en présence de paracaséine très plastique.

COSMOVICI (264) s'emploie à justifier la théorie de DUCLAUX. Pour lui, *l'apparition de protéose serait indépendante de la coagulation et postérieure à celle-ci.*

Elle serait due à l'action d'un ferment protéolytique apporté par la préparation de la présure. COSMOVICI conclut : « La coagulation du lait par la présure n'est pas un phénomène de dédoublement, mais un simple phénomène physique d'adhésion moléculaire. Le dédoublement de la caséine suit la coagulation du lait, mais n'en est pas la cause ; il est due à l'action protéolytique d'un ferment accompagnant la présure ou se confondant avec elle ».

« Pour nous, la paracaséine n'est autre chose que la caséine qui n'ayant plus à sa disposition le calcium nécessaire (COSMOVICI avait travaillé sur des laits oxalatés) ne coagule plus, mais précipite à l'ébullition. L'explication du phénomène réside dans le changement d'état d'équilibre des complexes colloïdaux déterminé par les conditions d'expérience. » Nous laissons au lecteur le soin de saisir la pensée de l'auteur.

Si COSMOVICI avait, au lieu de travailler sur le lait comme tant de ses devanciers, fait porter ses expériences sur des milieux synthétiquement préparés, sans doute, ne serait-il pas arrivé aux mêmes conclusions ou, du moins, leur eût-il apporté une précision que nous cherchons en vain dans ses propres expressions.

Est-il nécessaire de répéter une fois de plus que les théories physiques qui font jouer aux phénomènes colloïdaux un rôle que nous estimons exagéré ont parfois un caractère que nous avons déjà qualifié d'assez mystérieux. Elles invoquent sans les préciser des modifications moléculaires, et nous sommes tenté, en y pensant, de nous reporter aux premières luttes de l'ère pasteurienne et au fameux mouvement

(263) ARRHENIUS. — Immunschemistry, N. Y. 1907, 369.

(264) N. L. COSMOVICI. — Les protéiques du lait sont-ils dédoublés au cours de la coagulation par la présure ? *C. R. Soc. de biol.* 1924. 91, 885.

communiqué que LIEBIG, grand esprit scientifique cependant, invoquait pour expliquer le développement des fermentations.

On a fait intervenir les charges électriques, une vibration spéciale engendrée par la présure. N'est-ce pas reconnaître que sous prétexte d'expliquer, on n'explique rien. Ce qu'il y a de plus solide dans les théories colloïdales, c'est l'intervention de la protection d'un colloïde par un autre. Mais encore avons-nous vu que cette protection n'affecte que le stade visible de l'emprésurage et ne touche pas au stade essentiel invisible : l'attaque de la caséine par le ferment.

Après cet examen, tout à la fois historique et critique, de certaines théories colloïdales, nous avons à revenir sur les *théories chimiques* que nous avons abandonnées un moment, parce que, beaucoup plus que les théories physiques, elles *font jouer aux sels présents un rôle important*. Dans les théories physiques, il ne s'agit que d'expliquer la floculation de la caséine, et ce n'est qu'incidemment, sans y apporter la précision qui cependant semble imposée, que quelques auteurs pensent aux ions H et aux ions Ca présents.

Nous avons vu plus haut LOEVENHART conclure que la présure cause une association des particules de caséine en paracaséine, c'est-à-dire détermine la formation d'un colloïde moins hautement dispersé, alors que LAQUEUR arrivait à une conclusion opposée. Mais, si nous revenons sur son étude, c'est parce qu'il estime que la présure non seulement agit sur la caséine, mais fait également sentir son action sur les constituants minéraux du lait dont elle modifierait les rapports, qu'elle « *réarrangerait* », si l'on peut dire, de façon que les sels de calcium présents puissent le mieux servir à la coagulation. Il est amené à reconnaître dans le processus labique trois phases distinctes :

a) La transformation de la caséine en paracaséine ;

b) La modification ou encore la « *réarrangement* » des constituants minéraux du lait, grâce auxquels les sels de calcium peuvent servir pour la coagulation ;

c) La précipitation de la paracaséine par les sels calciques.

Pour lui, la transformation de la caséine en paracaséine marcherait quelquefois plus rapidement que la transformation nécessaire des sels calciques. Les deux premières phases a et b seraient dues à l'action de la présure, tandis que la troisième, — et là nous retrouvons la théorie de HAMMARSTEN, — serait indépendante de l'action du ferment.

Bref, il est curieux de constater que la présure agirait sur les matières minérales. De quelle manière, l'auteur ne le dit pas nettement. Il conclut simplement à la suite de ses recherches que la présure a le pouvoir, en quelque sorte, de rendre les sels calciques efficaces en leur donnant une liberté d'action qu'ils ne possédaient pas auparavant (die Calcium Salze frei zu machen).

Il est facile de comprendre la conception de LOEVENHART sans

qu'il soit nécessaire d'invoquer une action propre de la présure sur les sels du lait, conduisant à une répartition différente de ceux-ci qui les rendrait plus aptes à précipiter la paracaséine.

Nous avons, dans la première partie de ce travail, rappelé la répartition des matières salines dans le lait et nous en avons profité pour montrer que cette façon de faire était critiquée par certains auteurs, GRIMMER et surtout CLARK qui admettent, avec quelques réserves cependant, qu'il n'y a, dans le lait, que des ions. Nous estimions que nous pouvions dire, et nous en donnions les raisons, que tel ion était lié à tel cation plutôt qu'à tel autre. En tout cas, qu'il y ait ou non des sels préformés, dès l'instant qu'il se fait de la paracaséine, elle précipitera, puisque il y a suffisamment de sels calciques solubles dans le lait pour la précipiter. Il ne saurait donc s'agir d'arrangement des constituants minéraux du lait ; disons plus simplement que nous trouvons là l'application des anciennes lois de BERTHOLLET sur la précipitation des sels, lesquelles, après les recherches de MALAGUTI, étaient la forme première des lois de la mécanique chimique des sels.

Cette intervention des matières salines nous allons la voir bien mettre en évidence par beaucoup d'autres travaux qui suivent.

Déjà en 1890, M. ARTHUS et C. PAGÈS (265) en s'employant à dissocier les deux phénomènes successifs de la coagulation du lait, le clivage de la molécule de caséine, d'une part, et la précipitation de la paracaséine, d'autre part, sont amenés à justifier complètement la théorie de HAMMARSTEN :

« 1^o Le lait soumis à l'action du lab présente deux phénomènes bien distincts : une transformation chimique de la caséine, une précipitation de la caséine modifiée.

« 2^o La transformation chimique de la caséine est produite par le ferment-lab, qui engendre au moins deux substances dérivées de la caséine. Ils donnent le nom de *hémi-caséinogène* à la protéose de HAMMARSTEN (Molkeneiweiss)...

« 3^o La formation du caséum dans le lait traité par le lab est produite par les sels de chaux (en particulier par le phosphate de chaux du lait.) Elle est en quelque sorte le *témoin* de la transformation chimique de la caséine par le lab-ferment.

4^o « Le lab-ferment n'est donc pas ce qu'on croit. *Il n'est pas l'agent direct de la coagulation du lait. Il est l'agent modificateur de la caséine* et, à ce titre, il doit être rangé à côté de la pepsine, de la trypsine et autres ferments des matières albuminoïdes. »

Dans sa thèse, BRIOT fait jouer un rôle capital au phosphate de calcium. Il s'exprime ainsi :

« Le phénomène de la coagulation du lait par la présure se dédouble

(265) M. ARTHUS et C. PAGÈS. — Recherches sur l'action du lab et la coagulation du lait dans l'estomac et ailleurs. — *Archives de physiologie*, 1890, 2, 331.

en deux phénomènes successifs. Il produit une *transformation de la caséine de nature inconnue*. Puis cette transformation est suivie de la coagulation proprement dite.

« Cette coagulation est un phénomène d'ordre physique, intimement lié au phénomène parallèle de la précipitation du phosphate de chaux. C'est ce dernier sel qui donne au coagulum son caractère compact et rétractile. »

Le travail de BRIOT n'a pas été toujours compris très exactement, et nous ne pensons pas que KASTLE et ROBERTS en aient traduit nettement la pensée quand ils disent que pour BRIOT la présure agirait moins sur la caséine que sur le phosphate de calcium. Cela ne semble pas, d'après le texte même de cet auteur.

En tout cas, KASTLE et ROBERTS avec BRIOT sont conduits à la nécessité de la présence des sels de calcium. Nous-même, dans nos premières recherches, nous avons fait jouer au phosphate de calcium un rôle important. Si nous n'avons pas insisté dans cet historique sur nos travaux antérieurs, c'est que nous avons jugé plus opportun de placer l'esprit qui nous animait dans nos premières recherches en face de celui qui a inspiré nos dernières.

COURANT (188), pour qui la caséine existe dans le lait sous forme de caséinate bicalcique, estime que celle-ci est altérée par la présure au point qu'un précipité se forme au contact des sels solubles de calcium. C'est donc en somme la théorie de HAMMARSTEN doublée de considérations sur la forme saline de la caséine dans le lait. COURANT constate que la réaction du lait n'est pas modifiée pendant la coagulation par la présure. Cette observation n'est plus tout à fait exacte. Elle l'était du temps de COURANT alors que l'on employait à ce moment, pour la détermination de la réaction des liqueurs, des indicateurs colorés dont la sensibilité n'est pas considérable, puisque leur virage s'étale entre des pH qui peuvent être plus ou moins éloignés. Mais, aujourd'hui que l'on détermine l'acidité actuelle par des méthodes électrométriques très sensibles, on peut constater lorsqu'il s'agit du lait, une variation brusque du pH qu'il serait facile d'expliquer. Dans le fond, les vues de COURANT sont exactes, car si l'on s'adresse, non plus à du lait, mais à un édifice synthétiquement préparé : caséinate de calcium + phosphate de calcium, on constate que la variation du pH n'est que faible. *A fortiori*, il en serait encore mieux si on utilisait les indicateurs colorés peu sensibles comme le tournesol.

La plupart des travaux les plus importants qui ont porté sur le mécanisme de l'emprésurage ont visé à établir entre la caséine et la paracaséine des différences. Ce n'est pas le moment d'en parler dans cet historique, nous préférons y revenir un peu plus loin, pour la clarté de l'exposition, lorsque nous nous serons efforcé de montrer qu'à côté de la caséine existe bien la paracaséine qu'on ne saurait confondre avec elle.

Plusieurs auteurs, après HAMMARSTEN, ARTHUS et PAGÈS ont

cherché, puisque la caséine se clive en deux morceaux d'inégales grosseurs, à déterminer l'importance pondérale du plus petit, de celui qui ne précipite pas et reste dans la liqueur : l'*albumose* de HAMMARSTEN, l'*héli-caséinogène* d'ARTHUS et PAGÈS.

KÖSTER (266) s'est efforcé de le faire, mais n'ayant pas pour l'aider des jalons aussi précis que le *pH*, il s'aperçut vite des difficultés rencontrées. Nous y reviendrons d'ailleurs. E. FULD (267, 268) qui s'est prononcé avec réserve toutefois contre la théorie du clivage, trouve dans le sérum une albumose spéciale. P. Th. MÜLLER (269) confirme les données de HAMMARSTEN et de KÖSTER et admet, lui aussi, dans le sérum, la présence d'une albumine spéciale. PETRY (270), SPIRO, (271), SLOWTZOFF (272) acceptent également un clivage de la caséine sous l'action de la présure, mais alors que FULD, en confirmant les travaux de SCHMIDT-NIELSEN, (273) est conduit à penser que la présure sépare de la caséine une partie de l'azote ayant une valeur constante, par contre, d'autres auteurs, comme PÉTRY, SPIRO, trouvent que l'action de la présure n'est nullement terminée avec la formation de l'albumose du sérum et de la paracaséine et qu'une séparation d'azote se poursuit encore après la coagulation. Sans nul doute, les conditions d'acidité dans lesquelles ces auteurs ont opéré doivent être la cause de la continuité dans cette solubilisation de l'azote.

Nous aurons l'occasion de revenir sur presque tous ces points, puisque nous avons été amené à les envisager au cours de nos recherches. Avant d'en aborder l'examen, il importe de résumer cet historique si difficile à exposer en raison de la diversité et de l'imbrication des hypothèses formulées. D'accord avec LAQUEUR et plusieurs autres, c'est la théorie de HAMMARSTEN qui semble répondre le mieux aux faits observés. Nous nous en étions éloigné dans nos premières recherches ; celles qui ont suivi et au cours desquelles nous avons voulu pénétrer très profondément dans le mécanisme du processus nous y ont ramené. C'est la

(266) KÖSTER. — Nagra bidrag till kännedomen om kaseinet och dess koagulation med löpe. *Upsala Lakarelorenings Förhandlingar*, 1880-81, **16**, 514.

(267) E. FULD. — Ueber die Molkenalbumose. — *Brochem. Zeitschr.*, 1907, **4**, 488.

(268) E. FULD. — Ueber das Sogenannte Molkeneiweiss. *Beitr. z. chem. Physiol. u. Path.* 1907, **10**, 1.

(269) P. Th. MÜLLER. — Vergleichende Studien über die Gerinnung des Kaseins durch Lab und Laktoserum. — *Arch. f. Hygiene*, 1902, **44**, 126.

(270) E. PETRY. — Ueber die Einwirkung des Labferments auf Kasein. — *Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol.*, 1906, **8**, 339.

(271) K. SPIRO. — Beeinflussung und Natur des Labungsvorganges. — *Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol.*, 1906, **8**, 365.

(272) B. SLOWTZOFF. — Zur Frage der Labgerinnung der Milch. — *Beitrag z. chem. Physiol. u. Pathol.*, 1907, **9**, 149.

(273) S. SCHMIDT-NIELSEN. — Die Beziehung des Molkeneiweisses zur Labgerinnung (Parakaseinbildung). — *Beitrag z. chem. Physiol. u. Pathol.*, 1907, **9**, 322.

méthode synthétique à laquelle nous avons largement fait appel qui nous l'a permis.

CHAPITRE X.

L'EMPRÉSURAGE DU COMPLEXE

Caséinate de calcium + phosphates de calcium

Tous les auteurs qui, d'un peu près, avec l'aide de l'analyse chimique ont regardé ce qui se passait lors de l'emprésurage du lait, ont constaté que le précipité obtenu, le *caillé* comme nous disons, *se compose essentiellement* une fois qu'il est débarrassé des éléments solubles qu'il a englobés en se formant :

- a) D'une protéine : la paracaséine ;
- b) De chaux et
- c) D'acide phosphorique.

Ce qui laisse sous-entendre que, dans le lait originel, avant toute action de la présure, la caséine doit exister sous forme d'un sel calcique voisinant très étroitement avec le phosphate de calcium.

Ces vues ont été celles de HAMMARSTEN (274, 275), ARTHUS et PAGÈS (265), COURANT (188), LEHMANN (276), LINDET (142). Ces auteurs n'ont pas été conduits par les mêmes voies à la conclusion que nous venons de formuler et qui leur est commune à quelques variantes près.

Nous sommes ainsi amené à revenir sur l'état de la caséine dans le lait, que l'étude des questions posées dans les pages précédentes va nous permettre d'envisager avec plus de fruit.

LEHMANN (276) estime que *la caséine existe dans le lait frais sous la forme d'un sel complexe de calcium contenant du phosphate de calcium* et, selon lui, la composition de cet ensemble cadrerait raisonnablement avec la formule : *caséinate de calcium + phosphate tricalcique*.

COURANT (188) fait appel à la méthode synthétique et il constate qu'une solution peut être obtenue ayant essentiellement la même alcalinité vis-à-vis du tournesol, la même acidité vis-à-vis de la phénolphthaléine et se conduisant vis-à-vis de la présure comme le fait le lait frais, en unissant de manière convenable de l'eau de chaux, de la caséine et de l'acide phosphorique dans les proportions indiquées par l'équation suivante :

(274) O. HAMMARSTEN. — Zur Kenntniss des Caseins und der Wirkung des Labfermentes. Upsala, 1877.

(275) O. HAMMARSTEN. — Om det Kemiska forloppet vid Kaseinets Koagulation medlope. — *Upsala läkareförenings förhandlingar*, 9, 363.

(276) J. LEHMANN. — Die Milchuntersuchungen Professor Dr. J. Lehmann's. Mitgetheilt von Walther Hempel. — *Pflüger's Archiv.*, 1894, 56, 558.

En d'autres termes, le mélange ou composé :

ressemblerait très étroitement au système qu'affectent dans le lait frais le caséinate et le phosphate de calcium.

COURANT se demande si phosphate et caséinate sont simplement mélangés ensemble, quoiqu'intimement, ou s'ils forment quelque combinaison chimique lâche semblable à un sel complexe double qui ne pourrait être encore défini avec précision.

Dans la première partie de ce travail, nous avons été amené à discuter ce point et nous avons montré que caséinate et phosphate étaient unis colloïdalement ; leurs micelles se trouvent en quelque sorte accolés, mais sous l'influence d'une force centrifuge considérable, ils peuvent être néanmoins séparés. Leur union est donc bien intime, mais ils ne sont pas soudés sous forme d'un composé chimique plus ou moins bien défini.

Dans les formules ci-dessus, nous voyons que, pour COURANT, toutes les substances sont nécessaires à la coagulation du lait. Remarquons aussi qu'à côté du *phosphate tricalcique*, il place une quantité moléculairement égale de *phosphate monocalcique*. A notre avis, il ne faut considérer l'équation ci-dessus de COURANT que comme un schéma qui est assez loin de la vérité. L'ignorance dans laquelle on se trouvait à ce moment de l'importance de la masse moléculaire de la caséine, masse qui n'est pas encore bien définie à l'heure actuelle, nous force à conclure que l'équation de COURANT n'est que d'une très grande approximation. Elle contient trop de phosphate monocalcique dont le $\text{pH} = 3,2$ pour des solutions à 1 pour 1000. En tout cas, retenons-en l'essentiel : l'existence à côté d'un caséinate calcique, que COURANT appelait *caséinate dicalcique*, d'un mélange de deux phosphates : le tri- et le monocalcique, celui-ci, soluble, celui-là, insoluble.

L. LINDET (142) dans des publications sur les formes que le phosphore et le calcium affectent dans la caséine du lait admet que, dans le lait frais, il existe un sel soluble qu'il appelle le *phospho-caséinate de calcium*, dans lequel les $3/5$ du calcium saturent l'acide phosphorique des phosphates libres, les $2/5$ restants saturant l'acidité libre de la caséine qui relève, comme nous le savons, des COOH et des OH phosphoriques de cette protéine.

LINDET et AMMANN (75) ont soin de noter que « la caséine dissout également le phosphate de chaux fraîchement précipité, mais à la condition que l'on opère en présence de l'eau ordinaire, qui renferme de la chaux. » En effet, il se ferait du caséinate de calcium à l'état colloïdal qui s'unirait au phosphate de calcium, lequel fraîchement précipité est lui aussi à l'état colloïdal.

« De ces expériences on doit conclure que c'est le caséinate de chaux qui dissout le phosphate et que le composé soluble ainsi obtenu doit porter le nom de *phospho-caséinate de chaux* ».

Il semble bien d'après ce texte que LINDET et AMMANN n'aient pas visé l'obtention d'un composé tout à fait défini. C'est ce phospho-caséinate qu'ils retrouvent dans la « boue » d'écémage. Ceci « implique évidemment que la caséine se trouve en cet état dans le lait, puisque celui-ci n'a subi jusque-là que des manipulations mécaniques ».

HAMMARSTEN (277) avait montré, comme le disent LINDET et AMMANN, que la caséine et le phosphate de calcium se tiennent réciproquement en solution. Parmi les expériences si nombreuses qu'il a faites, relevons celle qui conduit synthétiquement à l'édifice : *caséinate de calcium + phosphates de calcium*, tel qu'il existe dans le lait et qui consiste à prendre de la caséine précipitée par l'acide acétique, à la laver, à la dissoudre dans l'eau de chaux, et à saturer très exactement l'excès d'alcalinité par l'acide phosphorique étendu.

Les difficultés que LINDET a pu rencontrer pour établir une répartition très exacte de la chaux entre la caséine et l'acide phosphorique, ainsi que pour définir les proportions relatives du phosphate bicalcique et du phosphate tricalcique, tiennent sans aucun doute à ce qu'il a opéré sur le lait, milieu trop complexe. Nous allons voir que l'utilisation de la méthode synthétique, *qui ne nous interdit pas de nous rapprocher des conditions naturelles* dans lesquelles se trouvent caséinate et phosphates de calcium dans le lait, va nous permettre d'établir, d'une part, une répartition dans des limites beaucoup plus étroites de la chaux, entre la caséine et l'acide phosphorique, et de montrer, d'autre part, quels sont les phosphates qui se forment.

PRÉPARATION DU COMPLEXE : CASÉINATE DE CALCIUM + PHOSPHATES DE CALCIUM

Dans presque toutes les recherches qui vont suivre, la quantité de chaux qui doit dans le complexe obtenu appartenir, partie à la caséine, partie à l'acide phosphorique, correspond sensiblement à celle qui se trouve dans le complexe naturel du lait de vache. Peut-être, lui est-elle un peu supérieure, ce qui provient de ce qu'ayant éliminé de nos expériences la magnésie qui accompagne toujours la chaux en jouant ici un rôle de même ordre, nous l'avons remplacée par une quantité sensiblement équivalente de chaux.

D'ailleurs, nous n'entendons pas cristalliser notre raisonnement autour d'une quantité décidée une fois pour toutes, et nous pouvons la faire varier, soit en-deçà, soit au-delà, dans des limites toutefois restreintes, sans que nous altérions en quoi que ce soit la signification des expériences à réaliser.

(277) O. HAMMARSTEN. — Zur Frage ob das Casein ein einheitlichen Stoff sei. — *Zeitschr. für physiol. Chem.*, 1882-83, 7, 227.

Nous avons finalement fixé, pour un litre de complexe renfermant toujours 30 grammes de caséine, le quantum de la chaux à 1100 milligrammes, c'est-à-dire, conformément à la terminologie dont nous avons parlé plus haut, nous sommes parti d'un caséinate à 1100.

LE PARTAGE DE LA CHAUX ENTRE LA CASÉINE ET L'ACIDE PHOSPHORIQUE.— Quelle sera, sur ces 1100 milligrammes de chaux, la part qui revient à la caséine et celle que nous estimons devoir être salifiée par l'acide phosphorique ?

Ce partage est assez délicat à faire, mais du moins avons-nous une base pour y procéder. Nous avons déjà eu l'occasion dans les pages antérieures de montrer quel est notre raisonnement et notre façon de l'amorcer. Nous estimons que la quantité de chaux relevant du caséinate du complexe est approximativement celle qui appartient à un caséinate préparé isolément, lequel potentiométriquement aurait la même réaction que le complexe.

A propos de la dialyse du lait, nous avons fait remarquer que ce processus physique fait virer vers l'alcalinité la partie colloïdale insoluble qui reste dans le dialyseur, la partie soluble, acide, traversant la membrane. Nous verrons qu'il en est de même pour le complexe, mais dans des limites moindres, que l'acidité du complexe d'un $pH < 7$ est la somme de deux acidités, celle d'une **partie insoluble** qui se ramènera surtout au *caséinate de calcium + phosphate tricalcique* et celle d'une **partie soluble** due à la présence de *phosphate bi-calcique* qui n'est pas insoluble, il s'en faut, et de *phosphate mono-calcique*. Mais la différence de réaction de ces deux morceaux n'est pas considérable et il faut la précision des indications du potentiomètre pour l'apprécier dans sa finesse. Si le pH du phosphate mono-calcique à 1 gramme pour 1000 est de 3,2, marquant ainsi une forte acidité, par contre, on doit admettre que la quantité de ce sel ne peut être que très faible dans l'ensemble du caséinate et des phosphates.

Or, pour un *complexe* dont le pH serait 7, nous savons que le *caséinate* de même pH renferme pour 30 grammes de caséine, un peu moins de 0 gr. 600 de chaux. PALMER et RICHARDSON, en effet, pour un caséinate à 588 de chaux pour 30 grammes de caséine trouvent un $pH = 6,96$. Leurs données coïncident donc très étroitement avec les nôtres.

Le chiffre de 600 s'abaisse d'autant plus que le pH lui-même s'abaisse, lorsque la réaction du caséinate ou du complexe va vers l'acidité. Mais encore une fois, aux alentours d'un $pH < 7$, retenons que nous pouvons admettre que la caséine est unie, en chiffres ronds, à 600 de chaux.

Donc, si sur les 1100 milligrammes de chaux que nous fixons aux 30 grammes de caséine dans le but de nous conduire au complexe, 600 milligrammes doivent rester unis à la protéine lorsque le pH du complexe sera égal ou très légèrement inférieur à 7, 500 milligrammes de chaux devront être salifiés par l'acide phosphorique.

Le caséinate à 1100 est très translucide, son pH est de 9,55 ; c'est dire qu'il est très alcalin, il rougit en effet fortement la phénol-phtaléine

C'est dans ce caséinate que l'on apporte l'acide phosphorique N/5 avec une burette micrométrique au 1/50 ou, mieux encore, au 1/100 de cm^3 , en espaçant les gouttes pendant que la liqueur est agitée fortement par un agitateur en verre à palettes mû par un petit moteur électrique muni de son rhéostat. La forte agitation de la liqueur assure la diffusion rapide, en quelque sorte immédiate, de la goutte d'acide phosphorique qui tombe. Il en résulte qu'aucun précipité ne se produit et le phosphate de calcium qui se forme est réparti pour ainsi dire uniformément dans la masse en affectant la forme colloïdale pour sa partie micellaire.

Si l'agitation du liquide était trop considérable, il y aurait production d'une mousse qui ne s'affaîsserait que très lentement, et qui générerait la répartition de l'acide phosphorique. Si par contre, elle était trop réduite, on aurait à craindre la formation d'un précipité que l'agitation insuffisante ne saurait résoudre complètement.

Influence de la température à laquelle on prépare le complexe phosphatique. — On opère à la *température ordinaire*, ou mieux encore, à *froid*. Le rôle de la température ici est double, et peut être envisagé dans ses *conséquences physiques* et dans ses *conséquences chimiques*.

A froid, l'état colloïdal est mieux assuré qu'à chaud, notamment lorsqu'il s'agit, pour les phosphates, de précipités salins en formation. Les températures élevées tendent à faire perdre à ces précipités, lorsqu'ils peuvent l'acquérir, l'aspect colloïdal, à en provoquer la floculation irréversible. C'est là un fait bien connu sur lequel nous n'insisterons pas davantage.

Mais, à notre avis, ce qui est plus important, c'est que *la température joue un rôle dans l'établissement des équilibres salins*. A basse température, les proportions relatives des phosphates tri-, bi- et sans doute mono-calcique qui se forment dans le complexe préparé dans la glace fondante, sont différentes de celles que l'on obtiendrait à une température plus élevée, le déplacement des équilibres se faisant dans le sens d'une insolubilisation, au fur et à mesure que la température s'élève ; c'est dire qu'à la plus haute température, on obtient plus de phosphate tricalcique que de phosphate bicalcique.

Au surplus, nous verrons plus loin l'action de la chaleur à des températures élevées, 100° et au-dessus, sur des complexes préparés à la température ordinaire, aux environs de 15° ; elle plaide en faveur de cette insolubilisation.

L'obtention des complexes permet de nous rendre compte de la nature des phosphates de calcium qui vont se faire. La détermination exacte de l'acidité par voie potentiométrique nous conduit, comme nous le faisons observer tout à l'heure, à rapporter à la caséine la quantité approximative de chaux qui lui revient pour ce même pH , le reste étant salifié par l'acide phosphorique. Nous savons que dans un caséinate à 1100, 600 environ sont pris par la caséine, il n'en reste plus que 500 pour l'acide phosphorique. Or, dans 100 cm^3 de liqueur une fois faite, il se trouve

que l'on a déversé 4 cm³ d'acide phosphorique à 18 gr. 72 par litre, soit pour 1000 cm³ de complexe: 0 gr. 7488, en chiffres ronds: 0 gr. 75, soit encore en P²O₅: 0 gr. 543.

Pour 142 de P²O₅ devant être transformés en phosphate tricalcique, il faut 168 de chaux; pour la même quantité de P²O₅ transformée en phosphate bicalcique, il en faut 112. Or, si nous mettons en face l'un de l'autre les chiffres du P²O₅ et de la chaux qui, nécessairement en raison des conditions de réaction du milieu, vu le pH final du complexe, s'unissent pour former le mélange des phosphates calciques de ce dernier, nous voyons qu'il ne peut pas y avoir dans le complexe uniquement du tri-calcique ou uniquement du bi-calcique, mais fatalement un mélange des deux, et presque en proportions égales. Il y a même formation indubitablement de phosphate monocalcique, mais en plus petite quantité.

Nous ne pouvons être conduit à cette conclusion que par une étude de la mécanique des phosphates calciques en dehors du voisinage de toute protéine. C'est un point sur lequel nous allons revenir tout à l'heure.

Il y a dans le complexe : phosphates tri-, bi- et mono-calcique.

— *Les proportions qui peuvent se former dans le complexe de phosphates tri-, bi- et mono-calcique sont sous la dépendance étroite du pH du complexe.* Pour un pH déterminé, elles ne varient pas si toutes les autres conditions sont identiques et, notamment, la température; mais si le pH marche vers l'acidité, nécessairement, cela entraîne la formation en plus grande quantité de phosphates bi- et mono-calciques solubles. La marche vers l'alcalinité tend, au contraire, à déplacer l'ensemble des phosphates vers la forme dominante du tricalcique. La solubilité du phosphate tricalcique est extrêmement faible; elle est de 1/9900, tandis que celle du phosphate bicalcique est de 1/600.

La solubilité du phosphate bicalcique. — Dans le complexe phosphatique, nous avons affaire à quatre sels: le caséinate de calcium et les trois phosphates calciques, tandis que dans le lait, la question se présente d'une façon plus complexe, puisque d'autres sels calciques, notamment les citrates, doivent être envisagés. Or, si la solubilité du phosphate bicalcique dans l'eau pure est de 1/600, soit 1 gr. 66 par litre, dans des milieux complexes comme le lait où plusieurs sels calciques sont en présence, nous savons que cette solubilité doit diminuer. Quoiqu'il en soit, elle n'est pas négligeable comme celle du phosphate tricalcique, et lorsque nous procéderons à la dialyse, le phosphate monocalcique présent passera très vite, mais avec lui, une partie importante du phosphate bicalcique traversera la membrane.

Pourquoi le caséinate blanchit-il lorsqu'on prépare le complexe phosphatique? Quand on prépare le complexe phosphatique, l'aspect des liqueurs se modifie au fur et à mesure que l'on verse l'acide phosphorique dans le caséinate sous l'agitation électrique. De translucide qu'il était, il devient blanchâtre, opaque, porcelanique, et il y a lieu

d'examiner pour quelles raisons le changement de teinte s'observe. Il en est au moins trois.

La première, c'est que le caséinate qui était fortement alcalin tend à redevenir acide, par suite de la neutralisation d'une partie de l'excès de chaux qui était à l'origine unie à la caséine. Or, nous savons que les caséinates acides sont plus blancs, moins opalescents que des caséinates alcalins.

La seconde raison, c'est que *des phosphates de calcium insolubles se sont formés* et c'est à leur dispersion micellaire qu'est dû en partie cet aspect blanchâtre.

Lorsqu'on prépare du phosphate de calcium colloïdal, non plus en présence de caséinate de calcium dont la propre teinte peut gêner l'appréciation des modifications d'aspect qui vont survenir, mais bien en présence de gélatine, par double décomposition entre le chlorure de calcium et le phosphate de sodium, la liqueur, de translucide qu'elle est, devient blanchâtre et d'autant plus qu'il y a une plus forte proportion de phosphates de calcium précipités.

Nous sommes fondé à penser que pour le lait, il en est de même et que l'aspect laiteux du lait écrémé, l'aspect également laiteux du complexe : *caséinate de calcium + phosphates de calcium* est surtout le fait de la dispersion micellaire du caséinate de calcium d'un $pH < 7$, d'une part, et des phosphates de calcium insolubles colloïdaux, d'autre part.

La troisième raison, nous la trouvons dans *le blanchiment du caséinate par addition d'un sel soluble de calcium*. Dans la préparation du complexe par neutralisation phosphorique de l'excès de chaux du caséinate originel, les phosphates solubles jouent le même rôle que le $CaCl_2$, lorsqu'on l'ajoute à du caséinate de calcium.

Ce qu'il faut entendre par la maturation du complexe. — Nous avons vu ce qu'il fallait entendre par maturation des caséinates ; semble-t-il qu'il en soit de même pour les complexes ? du moins, c'est ce que les faits nous indiquent.

Lorsqu'on charge un caséinate calcique très alcalin en acide phosphorique à la température ordinaire, on constate que le blanchiment de la liqueur s'accroît assez vite d'ailleurs avec le temps.

La maturation du caséinate a une certaine influence sur la préparation du complexe. Puisque le caséinate devient avec le temps plus acide que lorsqu'il vient d'être préparé, ce que nous pouvons traduire en disant que la caséine s'est mieux salifiée, c'est donc qu'il reste moins de chaux pour l'acide phosphorique. D'une autre manière, nous dirons qu'il faudra davantage d'acide phosphorique pour atteindre le même pH lorsque le caséinate vient d'être fraîchement préparé que lorsqu'il a mûri 24 ou 48 heures.

Cela va tout à fait de pair avec cette remarque très objective que le

complexe est plus blanc quand il est préparé sur un caséinate qui vient d'être fait que si on s'adresse à un caséinate qui a mûri.

RÉFLEXIONS SUR LA PRÉPARATION DU COMPLEXE. — Si nous nous servons habituellement dans nos recherches d'ordre synthétique d'un caséinate à 1100 auquel on additionne une quantité déterminée d'acide phosphorique pour en amener le pH aux environs de 7, reconnaissons que si nous partions d'un caséinate plus riche en chaux, d'une part, et si nous faisons, d'autre part, varier les quantités d'acide phosphorique, nous aurions ainsi la *possibilité de faire des complexes dans lesquels pour une même quantité de caséine, nous aurions des quantités variables, et variables à notre gré, d'acide phosphorique et de chaux*, par suite, des équilibres salins terminaux eux-mêmes différents; ceux-ci sont appelés à réagir vis-à-vis de la présure de façons également différentes.

Mais pour qu'un complexe coagule par la présure, il faut que son pH ne dépasse pas 7,40-7,50, limite au-delà de laquelle l'action du lab ne s'exerce plus. Entre les pH : 7 et 7,40-7,50, l'action de la présure va en se ralentissant, et ce n'est qu'à partir de 7, en-dessous de 7, en allant vers l'acidité, c'est-à-dire lorsque nous avons affaire à des complexes acides, potentiométriquement parlant, que l'action de la présure s'exerce dans des conditions normales, et d'autant plus rapidement que l'acidité est plus marquée.

Lorsqu'on s'adresse à des caséinates calciques très alcalins, à 1100 par exemple, nous pouvons leur additionner une quantité d'acide phosphorique assez forte, celle que nous avons définie un peu plus haut. Mais, si nous partons de caséinates très peu calciques, tels que les caséinates à 400 et à 600, il faut évidemment être très prudent dans l'acidification phosphorique, parce qu'on arriverait assez vite à la précipitation de la caséine, c'est-à-dire au voisinage du point isoélectrique de celle-ci. On doit en conclure que pour obtenir des complexes stables, cela ne se peut réellement qu'avec des caséinates dont la teneur en chaux ne descende pas au-dessous d'un certain minimum.

5 cm³ de caséinate à 400 qui donne un complexe stable avec 3/50 cm³ de PO_4H^3 à 18 grammes par litre, donne déjà un précipité, à froid, avec 5/50.

Nous venons de voir qu'il est très possible de faire varier dans un complexe les quantités de chaux et d'acide phosphorique, toujours pour une même quantité de caséine. Nous allons donner maintenant les résultats d'expériences portant sur ces variations qui ne sauraient être tout à fait indépendantes l'une de l'autre, puisque nous sommes dominé dans la préparation du complexe par le souci d'obtenir un pH tel que l'action labique puisse s'exercer. Par conséquent, si nous prenons des caséinates alcalins très différents en chaux et que nous voulions ramener les complexes qu'ils vont servir à préparer, à un $pH \leq 7$, il faudra bien

évidemment que nous ajoutions des quantités d'acide phosphorique, variables à leur tour.

FAIRE VARIER LA CHARGE EN ACIDE PHOSPHORIQUE SUR UN MÊME CASÉINATE. — *Plus on ajoute d'acide phosphorique à un même caséinate, plus on augmente évidemment la charge phosphato-calcique du complexe et sa tendance à l'acidité.*

5 cm³ de caséinate à 900 sont, par portions successives, additionnés de 1/50 cm³ à 6/50 cm³ de PO⁴H³ à 18 gr. par litre, soit pour 1 litre, de 0 gr. 072 à 0 gr. 432 de PO⁴H³.

Au fur et à mesure que l'on augmente le nombre des gouttes, on voit le caséinate blanchir, mais l'opacité quoiqu'indéniable, n'est pas encore très marquée à la température ordinaire.

Mais si l'on porte tous les tubes au B.M. à 40°, avant l'emprésurage, tous blanchissent et s'opacifient, d'autant plus que la charge phosphorique est plus grande.

Voici quels sont les temps de prise :

TABLEAU LXXX.

Avec 1/50 et 2/50 de PO ⁴ H ³	Pas de coagulation, même au bout d'une heure ; la liqueur blanchit et devient opaque, mais il n'y a pas de caillé.
Avec 3/50 de PO ⁴ H ³	Flocons mal liés, coagulation en 1 min. 40 sec
Avec 4/50 de PO ⁴ H ³	Caillé moulé, mais mou, prise en 45 sec.
Avec 5/50 de PO ⁴ H ³	Caillé ferme, prise en 30 sec.
Avec 6/50 de PO ⁴ H ³	Caillé très ferme, prise en 20 sec.

Nous pouvons conclure qu'avec une même quantité de caséine et de chaux dans l'ensemble du système, la fermeté du caillé et la rapidité de la coagulation croissent avec l'apport phosphorique, soit, en dernière analyse, d'une part, avec la quantité de phosphates de calcium, et d'autre part, avec l'acidité qui croît de son côté. De cette acidité relève une formation plus considérable de phosphate monocalcique, sel qui par sa solubilité et son acidité joue un rôle primordial.

Chemin faisant, dans ce travail, nous avons déjà eu l'occasion de faire la part des ions Ca et celle des ions H, dans la marche de l'emprésurage. Leurs actions s'associent comme c'est en règle le cas, mais on peut saisir l'action dominante, tantôt des uns, tantôt des autres ; tout cela dépend des conditions expérimentales dans lesquelles nous opérons, d'ailleurs à notre gré.

Lorsque nous ajoutons des quantités croissantes d'acide phosphorique à un même caséinate et que nous obtenons évidemment plus de phosphates, mais aussi une acidité plus marquée, les deux influences des ions Ca et des ions H se trouvent combinées dans les phosphates calciques solubles formés en plus grande abondance et la dissociation de leurs influences propres est assez difficile à établir. Pour y parvenir,

il faudra préparer deux complexes qui, pour des charges différentes de phosphates de calcium, aient le même pH ; pour cela, il est indiqué de s'adresser à des caséinates originels de richesses calciques différentes.

Avant d'en arriver à cette expérience, relevons-en encore une autre au cours de laquelle nous avons, toujours sur un même caséinate, fait des apports variables en acide phosphorique.

Nous avons opéré cette fois sur un caséinate à 1200.

Dans notre hypothèse où environ 600 de chaux étaient pris parla caséine, il en restait donc encore autant pour être salifié par l'acide phosphorique. L'acidité du complexe a été appréciée par la phtaléine du phénol et mesurée en degrés D.

Un caséinate à 1200 pour atteindre 12° D. ($pH = 6,70$) exige par litre 0 gr. 960 de PO^4H^3 . En estimant la chaux fixée à la caséine pour une pareille acidité à 550 milligr. par litre, il reste donc 650 milligrammes de chaux à neutraliser par l'acide phosphorique. Dans l'hypothèse où cette neutralisation aurait conduit à du phosphate tricalcique pur uniquement, il nous aurait fallu 0 gr. 760 de PO^4H^3 . Si nous n'escomptions que la formation de phosphate bicalcique, il nous en aurait fallu 1 gr. 137. Or, l'expérience nous a montré que 0 gr. 962 nous suffisaient. Il s'est donc fatalement formé un mélange de phosphates bi- et tri-calciques, auxquels nous ajoutons une quantité moindre de phosphate mono-calcique ; la mécanique des phosphates nous le montrera.

A ce caséinate à 1200, nous avons ajouté la quantité d'acide phosphorique nécessaire pour arriver à 12° D par 1/5 successivement.

TABLEAU LXXXI.

Caséinate à 1200 + 1/5 du PO^4H^3 nécessaire :	2°D. alcalinité
» 2/5 »	3°D. acidité
» 3/5 »	6°D. »
» 4/5 »	9°D. »
» 5/5 »	12°D. »

Additionnés de présure, voici ce que l'on obtient :

TABLEAU LXXXII.

Complexe avec 1/5 du PO^4H^3 : pas de prise	
» 2/5 »	idem.
» 3/5 »	prise en 5 min ; flocons mal soudés.
» 4/5 »	prise en 25 sec. ; bloc ferme.
» 5/5 »	prise en 10 sec. ; caillé solide.

On constate que l'opacité de la liqueur croît avec la charge en PO^4H^3 , et elle s'accroît encore quand on porte au B.M. à 40°.

A froid, avec 1/5 et 2/5, la liqueur est encore translucide.

Avec 3/5, elle est nettement blanchâtre.

Avec 4/5 et 5/5, elle est très blanchâtre, voire même opaque avec 5/5.

A la charge correspondant aux 3/5 de l'acide phosphorique et qui fait prise, mais très mal, en 5 minutes sous forme de flocons mal soudés, on ajoute avec

précaution HCl pour réaliser une acidité égale à celle de la charge possédant les $4/5$ du PO_4H^3 nécessaire. Nous avons alors une prise rapide en quelques secondes avec un bloc assez ferme.

Si nous faisons de même avec le complexe dont la charge phosphorique correspond aux $2/5$ de la dose nécessaire et qui ne donnait pas de coagulum, nous en avons un après acidification par HCl, avec obtention d'un bloc un peu moins ferme que celui qui précède.

Dans ces deux systèmes que nous venons d'obtenir, nous avons donc à côté des phosphates de calcium, du chlorure de calcium.

CHARGES DIFFÉRENTES EN PHOSPHATES DE CALCIUM VIS-A-VIS D'UNE MÊME QUANTITÉ DE CASÉINE ET DE QUANTITÉS VARIABLES DE CHAUX. — *Nous avons pris des caséinates à 800, 1000, 1200, 1500 et 2000 que nous avons neutralisés ensuite par l'acide phosphorique, pour obtenir des complexes, en prenant le soin d'assurer à ceux-ci le même pH.*

La teinte blanchâtre des liqueurs s'accroît graduellement quand on passe du caséinate à 800 au caséinate à 2000, et quand on porte au B.M. à 40° , l'opacité qui en résulte va en augmentant également.

Nous savons que si l'on chauffe au B.M. à 40° un caséinate avant qu'il ne soit chargé en phosphates, il blanchit et son aspect translucide disparaît en partie ; mais quand on le refroidit, il reprend intégralement ce dernier. *Il n'en est plus de même lorsqu'il s'agit du complexe phosphatique.*

Avec les complexes préparés en partant des caséinates ci-dessus, plus l'apport en acide phosphorique est grand, *plus la coagulation est rapide.*

Caséinate à 800 (2,66 % de CaO) amené par l'acide phosphorique à un $\text{pH} = 6,50$;

Temps de prise : 6 minutes.

Flocons épais, visqueux, qui se soudent en donnant un bloc ferme.

Caséinate à 1000 (3,33 % de CaO) :

Temps de prise : 3 min. 15 sec.

Bloc solide.

Caséinate à 1200 (4 % de CaO) :

Temps de prise : 2 min. 40 sec.

Bloc ferme.

Caséinate à 1500 (5 % de CaO) :

Temps de prise : 2 min. 10 sec.

Bloc ferme.

Caséinate à 2000 (6,66 % de CaO) :

Temps de prise : 45 sec.

Bien ferme.

(A suivre.)