SUR LA TENEUR EN FER DES CASÉINES INDUSTRIELLES

APPLICATION A LA FABRICATION DE CERTAINS FROMAGES

par

JEAN PIEN

Ingénieur chimiste I. C. R.,

Docteur ès sciences, Directeur des Laboratoires des « Fermiers Réunis ».

L'une des plus intéressantes applications des caséines industrielles est leur utilisation à la fabrication d'un fromage spécial, de consommation courante en Allemagne, le Harz-Käse.

Ce fromage, qui tire son nom de la région où il a été fabriqué pour la première fois, se prépare en principe en abandonnant à la fermentation spontanée des mélanges de caillebotte fraîche et de caséine sèche dans des proportions et dans des conditions de températures bien déterminées.

Cette fabrication a rencontré dès son origine un écueil grave du fait de la présence dans certaines caséines d'une dose de fer exagérée. La fermentation du Harz-Käse s'accompagnant de la formation d'une petite quantité d'hydrogène sulfuré (grâce à la présence d'atomes de soufre dans la molécule de caséine), il s'en suivait, en milieu alcalin, une production de sulfure de fer gris bleuté qui teintait les fromages et les rendait inutilisables.

Les fabricants du Harz-Käse n'ont donc pas tardé à exiger des caséines exemptes de fer et plusieurs savants ont cherché à mettre au point des méthodes rapides et simples permettant à l'industriel lui-même, de reconnaître *a priori* la présence ou l'absence de fer dans les caséines destinées à entrer dans sa fabrication.

La méthode d'examen utilisée actuellement en Allemagne ne laisse passer que des caséines parfaitement irréprochables.

Ces caséines sont pour la plupart des caséines de Nouvelle-Zélande.

Les produits européens sont presque tous exclus de la fabrication, quand ils sont soumis à l'examen des laboratoires, par suite de leur plus ou moins grande teneur en fer.

* * *

Or, un fait de la plus haute importance mérite d'être signalé.

De nombreux industriels (fabricants de Harz-Käse) n'ayant pas recours aux services des laboratoires officiels et utilisant des caséines françaises (non condamnées, par suite de cette absence d'examen trop sévère), s'en trouvent fort bien.

Il faut reconnaître que les produits qu'ils fabriquent, s'ils étaient

Tableau de teintes du Dr. Schaeffer

(Appréciation de la teneur en fer des Caséines)

Appréciations
du
Dr. Schaeffer

Sans fer

Très peu de fer
Encore utilisable
pour
le fromage
0,0007 Fe²O³ %

Un peu plus riche en fer
A employer seulement
mélangée avec de la
caillebotte tout à fait
dépourvue de fer
0,0007 Fe²O³ %

Plus riche en fer
Ne peut plus être
employée
0,001 Fe²O³ %

Très riche en fer
Tout à fait inutili-
sable
0,002 Fe²O³ %

(1)

(2)

(3)

(4)

(5)

Teneurs
réelles en fer
(en Fe)

Entre les teintes
(1) et (2)
jusqu'à : 0,010 %
utilisable

0,010 %
à
0,015 %
utilisable

0,015 %
à
0,020 %
inutilisable

0,020 %
à
0,025 %
inutilisable

plus de 0,025 %
inutilisable

conservés longtemps, finiraient par se teinter légèrement, bien qu'au début, la couleur du fromage soit tout à fait normale.

Ce délai de verdissement — d'autant plus long d'ailleurs que la caséine est moins riche en fer — est tel, avec certaines caséines françaises, que le fromage se trouve être vendu et consommé bien avant que la coloration soit intervenue (1).

D'ailleurs, pendant de longues années (avant la guerre surtout), on a utilisé, sans s'en apercevoir et sans s'en plaindre, des caséines non irréprochables, pauvres en fer, qui ont donné satisfaction.

En fait, avec des caséines françaises très pauvres en fer, la coloration n'intervient qu'à une date où le fromage est devenu inconsommable, parce qu'il dégage une odeur repoussante accompagnée de la liquéfaction des couches externes. C'est la raison pour laquelle les produits fabriqués par les industriels utilisant ces caséines ont été déclarés bons par la clientèle, puisqu'ils ont été consommés bien avant ce stade.

Or, toutes ces caséines sont impitoyablement refusées quand on les soumet à l'examen de certains laboratoires allemands. Ceux-ci sont incontestablement de bonne foi. Mais, d'après l'étude que nous avons faite de la question, ils utilisent des méthodes qui ne leur permettent pas de faire la distinction entre les caséines impeccables et les caséines simplement acceptables.

Nous admettons, certes, que pour la fabrication de fromage destiné à être conservé longtemps (jusqu'à ce que ce fromage devienne presque inconsommable par son odeur et sa liquéfaction), il convient de n'employer que des caséines parfaitement irréprochables, comme celles de Nouvelle-Zélande et comme celles que l'on commence à trouver sur le marché français et dont la fabrication va s'intensifier.

Mais ce serait une erreur technique que de refuser inconsidérément l'emploi de caséines à *faible teneur* en fer, pour les raisons que nous venons d'indiquer et aussi une erreur économique de ne pas favoriser l'emploi des caséines européennes, dans la mesure bien entendu où l'industriel n'aura pas à en souffrir.

* * *

En résumé :

Il existe deux sortes de caséines quant à la fabrication du Harz-Käse :

a) Des caséines parfaites (dites « sans fer »), que tout le monde s'accorde à reconnaître convenables. Ce sont surtout des caséines de Nouvelle-Zélande.

(1) Le fromage est consommable 5 à 6 jours après sa fabrication. La maturation n'est cependant complète que 8 jours plus tard. La période acceptée couramment pour la consommation dure environ 4 semaines. En pratique le fromage est vendu les 2 à 3 premières semaines. Il est très rare d'en voir consommer après 4 semaines.

b) Des caséines contenant *très peu de fer* (caséines françaises surtout), donnant actuellement de bons résultats à de nombreux industriels qui les emploient depuis longtemps, sous la double réserve que le fromage soit destiné à une vente rapide (ce qui est le cas général pour un produit de cette nature), et que la dose de fer ne soit pas, naturellement, supérieure à une certaine limite.

Or, les laboratoires allemands n'acceptent aucune limite. Ils refusent toutes les caséines de cette deuxième catégorie, se mettant ainsi en contradiction avec les résultats d'une pratique reconnue raisonnable, risquant aussi de jeter le trouble dans l'esprit des fabricants de fromage et fermant à une industrie qui se développe de jour en jour le marché des caséines européennes.

Toutes ces raisons montrent clairement la nécessité d'une étude judicieuse et impartiale de la question.

Il nous a paru nécessaire d'aller étudier sur place les méthodes allemandes d'examen, leur origine et la cause de leur intransigeance.

Nous n'avons pas la prétention d'épuiser le sujet, ni de donner des solutions définitives. Nous croyons simplement pouvoir donner des bases claires et solides à la discussion qui ne va pas manquer de s'ouvrir sur cette question.

* * *

L'une des méthodes couramment employées en Allemagne pour l'appréciation du fer des caséines est la méthode du Dr SCHAEFFER [1], consistant, en principe, à faire une pâte ammoniacale de caséine à laquelle on ajoute du sulfhydrate d'ammoniaque.

Le développement presque instantané d'une teinte plus ou moins foncée, suivant les doses de fer de la caséine, permet de comparer l'échantillon à une échelle de tons spécialement dressée par le Dr SCHAEFFER et d'en tirer des conclusions pratiques quant à l'utilisation possible de la caséine dans la fabrication du Harz-Käse.

Les teintes du Dr SCHAEFFER sont en outre accompagnées d'un chiffre qui prétend représenter la dose de fer contenue dans la caséine — dose susceptible, d'après cet auteur, de reproduire la teinte correspondante dans le fromage.

Une autre méthode recommandée dès 1911 par le Dr GRIMMER [2], et reprise depuis par le Dr BUTTENSCHÖN, de Hildesheim, consiste à traiter la caséine par de l'acide chlorhydrique et un sulfocyanure alcalin. Il se forme une coloration rouge ou rose, théoriquement proportionnelle à la teneur en fer du produit et que l'on compare à une échelle de teintes donnée par le Dr BUTTENSCHÖN.

Nous avons eu l'occasion d'étudier de très près ces deux méthodes.

Nous avons été très surpris de constater une première contradiction formelle entre les conclusions que nous pouvions tirer de ces méthodes (par le seul examen des teintes) et les conclusions tirées par

certaines laboratoires allemands utilisant les mêmes méthodes sur les mêmes caséines.

Ayant également étudié le dosage du fer dans les caséines par des procédés inspirés des méthodes classiques et mis au point dans nos laboratoires, nous avons constaté une deuxième et très grave contradiction entre les chiffres obtenus et les chiffres indiqués par les méthodes allemandes pour les mêmes caséines.

Nous étudierons donc successivement :

1° L'examen des caséines par les méthodes allemandes et l'interprétation qu'on doit leur donner par la comparaison des teintes.

2° L'examen des caséines par le dosage véritable du fer et la contradiction des teneurs entre les méthodes précédentes et les autres méthodes.

3° L'épreuve pratique de fabrication et la conclusion qu'elle permet de tirer quant à l'examen des caséines par les méthodes précédentes.

* * *

PREMIÈRE PARTIE

LES MÉTHODES ALLEMANDES DE COMPARAISON PAR LES TEINTES

I. LA MÉTHODE SCHAEFFER - MODE OPÉRATOIRE ORIGINAL.

« Environ 20 gr. de caséine sont introduits dans une capsule de porcelaine et pétris avec une quantité d'ammoniaque telle que la caséine soit *complètement dissoute, c'est-à-dire que la caillebotte soit devenue transparente* et que l'on puisse percevoir à l'odeur un excès d'ammoniaque. 20 gouttes d'ammoniaque (densité : 0,960) suffisent pour cet essai.

« Ensuite on ajoute 5 gouttes de sulfhydrate d'ammoniaque jaune ; la masse est à nouveau pétrie et posée sur un papier, un objet en porcelaine ou une plaque de verre et comparée au bout de 10 minutes au moins avec la table des teintes. »

Cette table comporte 5 teintes :

Teinte n° 1 : Jaune clair ; mention : « sans fer ».

Teinte n° 2 : gris vert clair ; mention : « très peu de fer, encore utilisable pour la fabrication du fromage ».

Teinte n° 3 : gris vert franc ; mention : « un peu plus riche en fer ; à employer seulement mélangée avec de la caillebotte tout à fait dépourvue de fer ».

Teinte n° 4 : gris vert foncé ; mention : « plus riche en fer, ne peut être employée ».

Teinte n° 5 : gris vert très foncé ; mention : « très riche en fer, tout à fait inutilisable ».

II. INTERPRÉTATION DONNÉE A LA MÉTHODE INITIALE DE M. SCHAEFFER. CONTRADICTION DES DEUX MODES OPÉRATOIRES.

Au cours d'une visite faite dans certains laboratoires allemands, nous avons pu constater que la méthode initiale du Dr SCHAEFFER n'était pas appliquée comme il convient.

Voici, en effet, quel est le mode opératoire actuellement en usage dans les laboratoires de contrôle des caséines :

« 10 gr. de caséine sont pétris avec 20 cm³ d'eau distillée. On ajoute 6 à 10 cm³ d'ammoniaque diluée pour faire gonfler les grains de caséine ; *quand ils ont pris la consistance du « frai de grenouille »*, on ajoute 5 à 10 gouttes de solution fraîche de sulfure d'ammonium. La caséine change de couleur après 3 à 10 minutes et devient verte si elle contient du fer. »

Il y a une différence fondamentale en ces deux modes opératoires.

Le procédé initial du Dr SCHAEFFER recommande de n'ajouter le sulphydrate d'ammonium que lorsque la caséine est *complètement dissoute*, alors que le mode opératoire en usage dans certains laboratoires préconise d'introduire le sulfure *sur les grains de caséine simplement gonflés*.

Cette différence de technique entraîne la différence suivante sur le résultat :

Certaines caséines qui ne donnent que la teinte n° 1 (ou une teinte comprise entre les teintes n°s 1 et 2) en appliquant le mode opératoire initial, donnent des teintes beaucoup plus foncées (n° 3 ou même 4) si l'on s'adresse au mode opératoire actuellement en usage sous le nom de méthode Schaeffer.

Autrement dit, la méthode Schaeffer originelle accepte certaines caséines, que la méthode Schaeffer « interprétée » en usage actuellement refuse.

III. LE MODE OPÉRATOIRE INITIAL DOIT ÊTRE CONSERVÉ.

Il n'y avait qu'un moyen de trancher le différend qui divise ces deux techniques : exécuter des essais pratiques de fabrication.

Le résultat obtenu est le suivant :

Certaines caséines, acceptables suivant le mode opératoire initial (très pauvres en fer) et refusées par la technique actuelle, ont donné d'excellents résultats pratiques : les fromages ne se sont pas colorés pendant les 3 semaines qui ont suivi la fabrication. Ils sont restés jaunes, comme les fromages de caséines acceptées par les deux méthodes (1).

C'est donc la méthode initiale du Dr SCHAEFFER qui représente

(1) Il est toujours entendu que ces caséines donnent des fromages qui se teintent si on les conserve à l'air et à la lumière pendant 5 ou 6 semaines. Cette réserve ne doit pas être perdue de vue. Elle correspond à un délai de conservation qui n'est que rarement atteint et où le fromage a perdu d'autres qualités.

le mieux ce qui se passe en fabrication et c'est elle qui doit servir d'épreuve pour le tri des caséines ; on peut d'ailleurs en rendre les conclusions un peu plus sévères, ainsi que nous le ferons ci-après pour augmenter la marge de sécurité, mais sans atteindre — loin de là — l'extrême intransigeance du mode opératoire actuel.

IV. ESSAI D'EXPLICATION DE LA CONTRADICTION DES DEUX MODES OPÉRATOIRES.

Toute la question tient en ceci :

La maturation complète (avec dissolution) de la caséine rend moins sensible, ou masque partiellement, la réaction du sulfure d'ammonium sur les sels de fer. L'addition prématurée de sulfure provoque au contraire des colorations plus intenses.

Voici l'hypothèse que nous proposons pour expliquer ce phénomène :

Le fer des caséines ne provient du lait que pour une partie (voir ci-après). La plus grande partie du fer total des caséines provient des opérations de préparation de la caillebotte (cuves, pressoirs) et de séchage de la caséine. Nous montrerons d'ailleurs, qu'il ne provient pas du broyage, même dans le cas de cylindres en acier.

Le fer s'introduit donc en grande partie par contact de la caillebotte humide et acide avec des parties métalliques non protégées (clous rouillés, bacs désétamés, etc.).

Il est plausible de supposer que le fer se répartit (surtout lorsque la caséine commence à sécher) à la surface des grains de caséine en contact avec le métal.

On le voit nettement quand on fait l'essai Schaeffer (technique actuelle), où certains grains de caséine, et non pas la masse totale, se teintent en vert foncé, et où certains grains sont plus teintés sur une face que sur l'autre.

Quand il y a beaucoup de grains ainsi chargés de fer à leur périphérie, la coloration *superficielle* de ces petites sphères donne à l'ensemble une teinte générale assez foncée qui ne correspond pas à la coloration moyenne que prendrait la masse si la totalité du fer était répartie dans la totalité de la caséine.

Autrement dit, le mode opératoire actuel concentre les colorations à la surface des grains où se trouve plus spécialement le fer, alors que le mode opératoire initial impose de répartir ce fer (et donc, les colorations) dans toute la masse par un mûrissage complet. D'où la différence d'intensité des teintes observées.

Mais il y a plus.

Nous avons observé que, jusqu'à des doses de fer assez élevées, la réaction initiale de SCHAEFFER ne donne rien en présence de caséine.

L'expérience suivante est très démonstrative :

Dans deux capsules de porcelaine contenant 20 cm³ d'eau, introduisons 0 mgr. 2 de fer à l'état de sel soluble. Dans l'une des capsules, ajoutons 10 gr. de caséine et faisons sur les deux capsules la réaction de SCHAEFFER (avec mûrissage complet de la caséine avant l'introduction du sulfure). La capsule ne contenant que du fer prend une coloration bleu-vert foncé, alors que la caséine de l'autre capsule (renfermant la même dose de fer introduite) ne se teinte pas du tout.

L'hypothèse précédente ne peut être invoquée pour expliquer ce phénomène.

On peut néanmoins supposer que le caséinate d'ammoniaque donne avec les sels de fer solubles un complexe où le fer est masqué et sur lequel le sulfure d'ammonium est sans action.

Il faut atteindre des doses de fer beaucoup plus élevées pour voir apparaître un commencement de teinte dans la caséine ainsi traitée. A ce moment, le témoin sans caséine donne un fin précipité de sulfure de fer.

Le même essai répété avec le mode opératoire actuel donne une coloration intense du liquide où nagent les grains de caséine non dissous et où le fer ambiant n'a pas pénétré.

Il semble bien que les choses se passent dans la fabrication comme dans le mode opératoire ancien. Il y a d'abord un mûrissage de la caséine (sans putréfaction) au cours duquel le fer soluble se combine à la matière albuminoïde. Quand la caséine se dégrade avec formation d'hydrogène sulfuré, le fer n'est plus en mesure (jusqu'à une certaine dose) de réagir pour donner une coloration.

V. LA MÉTHODE AU SULFOCYANURE ALCALIN (GRIMMER-BUTTENSCHÖN).

Le principe de cette méthode est le suivant :

Une petite quantité de caséine est additionnée de quelques cm³ d'acide chlorhydrique partiellement dilué. On ajoute ensuite une solution de sulfocyanure alcalin, qui produit une coloration rouge ou rose plus ou moins intense.

Cette méthode présente un avantage sur la méthode Schaeffer : ainsi que nous le dirons ci-après, la méthode Schaeffer révèle seulement le fer soluble ; la méthode au sulfocyanure met en évidence le fer total, puisqu'elle utilise une réaction en milieu fortement acide.

Mais elle a, en revanche, de sérieux inconvénients :

1^o Elle a d'abord l'inconvénient essentiel de la méthode Schaeffer « interprétée ». C'est une réaction *instantanée* sans mûrissage.

L'addition de sulfocyanure sur la caséine mélangée à l'acide agit d'abord et immédiatement sur le fer périphérique des grains.

Tout ce que nous avons dit précédemment trouve sa place ici.

En outre, il n'est pas possible de remédier à cela en provoquant une dissolution complète de la caséine, car, pour parvenir à ce résultat,

il faut faire appel à de l'acide plus concentré ou à un chauffage avec de l'acide dilué (comme pour le dosage de la matière grasse par la méthode Schmidt-Bondzynski). On sait qu'il se produit alors une coloration violette qui empêcherait complètement d'apprécier la teinte du sulfocyanure ferrique.

Nous avons, sans grand succès d'ailleurs, essayé de modifier cette méthode en faisant d'abord une colle ammoniacale que nous traitions ensuite par de l'acide chlorhydrique, puis du sulfocyanure.

Nous obtenions une caillebotte dont les propriétés d'absorption vis-à-vis du sulfocyanure ferrique ne sont pas nulles, mais ne sont en rien comparables à celles qui se produisent dans le Schaeffer primitif, où l'absorption se produit entre le fer et la protéine avant l'action du sulfhydrate.

Nous retrouvons donc dans le procédé Buttenschön la même sévérité que dans le mode opératoire Schaeffer « interprété » et nous n'avons pas été étonné quand l'auteur de cette méthode nous a déclaré aboutir aux mêmes résultats par l'application de sa méthode et de celle de Schaeffer sans mûrissage. Dans les deux cas, le fer périphérique entre en jeu (sans combinaison préalable à la protéine et sans diffusion dans la masse) et il est naturel pour une même quantité de fer d'obtenir la même conclusion par comparaison à des teintes respectivement vertes ou rouges préalablement « tarées ».

Nous croyons donc que la méthode au sulfocyanure mérite le même reproche que le mode opératoire actuel de la méthode Schaeffer, et pour la même cause : absence de mûrissage préalable.

2° Un autre reproche peut être fait à cette méthode : les teintes produites n'apportent pas au fabricant de fromage, l'image de ce qui pourrait se produire dans sa fabrication. L'industriel redoute une teinte verte. Ce sont des teintes vertes qu'il faut lui montrer pour un essai *pratique*.

Nous nous excusons auprès de M. BUTTENSCHÖN des critiques que nous nous permettons d'élever contre sa méthode. Ces critiques ne nous font nullement oublier le très cordial accueil qu'il nous a réservé dans son laboratoire de la « *Molkerei Zeitung* » et dont nous tenons à le remercier ici vivement.

* * *

DEUXIÈME PARTIE

L'EXAMEN DES CASÉINES PAR LE DOSAGE VÉRITABLE DU FER ET LA CONTRADICTION DES TENEURS ENTRE LES MÉTHODES ALLEMANDES ET LES AUTRES MÉTHODES

De tout ce qui précède, il résulte que les modes de triage actuels sont erronés et que la méthode initiale de SCHAEFFER (avec mûrissage) constitue un bon moyen pratique d'examen.

Il y a toutefois une réserve très importante à faire.

Les teintes du Dr SCHAEFFER ne sont pas seulement accompagnées d'indications concernant les conclusions pratiques, mais encore de chiffres qui représentent les doses de fer correspondant aux teintes obtenues.

Ces chiffres sont manifestement erronés et dans une proportion très considérable.

Il en est de même des chiffres qui accompagnent les teintes du tambour du Dr BUTTENSCHÖN.

Nous croyons devoir insister également sur ce point pour la raison suivante :

Si un laboratoire a dosé le fer d'une caséine par une méthode classique précise et si on juge de l'acceptabilité de cette caséine par l'examen des chiffres du tableau Schaeffer, cette caséine sera refusée dans tous les cas — même dans celui où elle serait acceptée par l'épreuve des teintes bien faite. Or, il arrive qu'on ne fasse pas l'essai des teintes quand une caséine est offerte avec une analyse donnant sa teneur en fer. Dans ces conditions, on refusera tous les produits proposés, même ceux qui conviendraient, parce qu'on aura tenu pour exacte la correspondance des teneurs et des teintes des tableaux Schaeffer ou Buttenschön.

On conçoit aisément toute la gravité de cette nouvelle erreur et la nécessité d'y porter remède.

I. LES TENEURS EN FER DU TABLEAU SCHAEFFER SONT INEXACTES.

Voici les teneurs en fer qui accompagnent les teintes du Dr Schaeffer :

Teinte n° 1 (« sans fer ») : 0 mgr. en Fe^2O^3 pour 100 gr. de caséine.

Teinte n° 2 (« utilisable ») : 0 mgr. 3 en Fe^2O^3 pour 100 gr. de caséine.

Teinte n° 3 (« à employer en mélange avec une caillebotte exempte de fer ») : 0 mgr. 7 en Fe^2O^3 pour 100 gr. de caséine.

Teinte n° 4 (« ne peut plus être employée ») : 1 mgr. de Fe^2O^3 pour 100 gr. de caséine.

Teinte n° 5 (« tout à fait inutilisable ») : 2 mgr. en Fe^2O^3 pour 100 gr. de caséine.

L'expérience que nous avons relatée précédemment nous apporte la preuve de l'inexactitude de ces chiffres :

10 gr. de caséine additionnée de 0 mgr. 2 de fer sous forme soluble (soit 2 mgr. %) et traitée par le procédé Schaeffer initial ne donne pas de coloration. Or, cette teneur est portée sur le tableau comme correspondant à la teinte n° 5.

Par contre, la capsule-témoin (sans caséine) contenant cette dose de fer donne exactement la teinte n° 5.

On s'explique aisément l'erreur commise : les teintes ont dû être reproduites à partir de gammes de sels de fer purs en l'absence de toute matière albuminoïde.

D'ailleurs, dans son mémoire, le D^r SCHAEFFER ne parle à aucun moment du titrage du fer dans les caséines par une méthode d'attaque ou par un dosage classique sur les cendres. Il n'est donc pas parti de caséines à teneurs en fer connues pour donner à ses teintes une valeur correspondante réelle ; c'est ce qui rend plausible l'explication que nous venons de donner.

II. LES TENEURS DU TAMBOUR DE BUTTENSCHÖN SONT INEXACTES.

Voici les teneurs en fer qui accompagnent les teintes du D^r BUTTENSCHÖN pour son tambour :

Teinte n° 1 (« sans fer »).

Teinte n° 2 (« utilisable ») : 0 mgr. 3 de fer dans 100 gr. de caséine.

Teinte n° 3 (« encore utilisable, à mélanger avec de la bonne caillebotte ») : 0 mgr. 7 de fer dans 100 gr. de caséine.

Teinte n° 4 (« inutilisable ») : 1 mgr. 2 de fer dans 100 gr. de caséine.

Teinte n° 5 (« tout à fait inutilisable ») : 2 mgr. de fer dans 100 gr. de caséine.

Les expériences réalisées précédemment sur des caséines soumises à l'essai Schaeffer initial, répétées ici sur des *caillebottes* (c'est-à-dire des protéines susceptibles de réaliser des absorptions énergiques), donnent des résultats un peu analogues.

Ainsi, une caillebotte ayant donné une certaine teinte à l'essai Buttenschön et analysée par une méthode précise (avec destruction de la matière organique), donne un chiffre réel de fer plus élevé que le chiffre indiqué sur la teinte correspondante.

L'essai Buttenschön *sur caillebotte* se rapprocherait donc dans une certaine mesure de l'essai *Schaeffer initial*.

Mais *sur des caséines*, il correspond à l'essai Schaeffer « interprété » actuel. Comme lui, il indique des doses de fer tout à fait fausses, parce qu'il est instantané et ne permet pas le mûrissage de la caséine, c'est-à-dire la répartition du fer dans toute la masse.

Dans ces deux épreuves (Schaeffer, Buttenschön), le fer « interne » d'une caséine sans fer périphérique non combiné n'est pas décelable, car il est masqué par nature dans l'intérieur de la substance des grains. Aussi, les deux méthodes concluent-elles à l'absence de fer quand elles donnent les teintes n° 1.

En fait, toutes les caséines contiennent du fer et des doses beaucoup plus considérables que les teneurs indiquées ci-dessus.

Outre le fer introduit accidentellement pendant la fabrication de la caillebotte, il y a lieu de tenir compte du fer contenu dans le lait.

Les travaux récents de LESNÉ et CLÉMENT [3] utilisant la méthode

à l'alloxantine proposée par ZIZINE, basée elle-même sur une réaction de DENIGÈS [4], ont montré que la teneur en fer du lait de vache était de 1 mgr. par litre.

D'autre part, il est facile d'observer que, lors de la coagulation du lait par un acide, une grande proportion, sinon la majeure partie du fer, reste dans le caillé.

Et comme un litre de lait fournit industriellement 25 à 28 gr. de caséine *sèche*, on peut en déduire qu'on aura, avant toute pollution accidentelle, 3 à 4 mgr. de fer dans 100 gr. de caséine.

Les teneurs indiquées par le Dr SCHAEFFER et par le Dr BUTTENSCHÖN feraient refuser toutes les caséines sans exception, même celles qu'ils acceptent et qui font 5 à 6 mgr. de fer pour 100 gr.

Si l'on songe maintenant à toutes les causes possibles d'introduction du fer dans le lait frais (poterie mal étamée), puis dans le lait acide (cuves de fabrication), enfin dans la caillebotte (brise-motte, séchoirs), on concevra aisément que l'on puisse trouver couramment des caséines contenant 10 mgr., 20 mgr. et plus de fer pour 100 gr.

Un mgr. de fer dissous accidentellement dans 1 litre de lait peut enrichir la caséine de 4 mgr. pour 100 gr. Un mgr. de fer introduit dans 100 gr. de caillebotte pressée (à 60% d'eau) enrichit la caséine finale d'environ 3 mgr. de fer pour 100 gr.

Nous avons cherché à corriger les teneurs portées sur le tableau des teintes du Dr SCHAEFFER (1).

En suivant le mode opératoire initial de SCHAEFFER, les 5 teintes correspondent approximativement aux teneurs réelles suivantes :

Entre la teinte n° 1 et la teinte n° 2 : jusqu'à 10 mgr. de fer pour 100 gr. de caséine.

Teinte n° 2 : de 10 à 15 mgr. de fer pour 100 gr. de caséine.

Teinte n° 3 : de 15 à 20 mgr. de fer pour 100 gr. de caséine.

Teinte n° 4 : de 20 à 25 mgr. de fer pour 100 gr. de caséine.

Teinte n° 5 : de 25 à 30 mgr. de fer et plus pour 100 gr. de caséine.

Ces chiffres sont d'ailleurs quelque peu approximatifs, en raison de la difficulté, dans certains cas, de réaliser une comparaison exacte des teintes (opacité du produit, épaisseur de la couche étalée).

Remarques : Après avoir exécuté ces essais, nous avons eu connaissance, grâce à la complaisance du Dr BUTTENSCHÖN de Hildesheim, que nous remercions vivement, du mémoire du Dr GRIMMER, dont nous avons déjà parlé [2] et où nous lisons ce qui suit : « ... Les essais faits par le Professeur KLEIN à Proskau, démontrent que les quantités de fer annoncées par SCHAEFFER étaient trop minimes et que les

(1) Jusqu'à preuve du contraire, nous persistons à croire que la méthode Schaeffer seule pourrait être conservée en revenant au mode opératoire initial. C'est pourquoi nous n'avons pas réalisé la même rectification sur les teintes Buttenschön.

quantités de fer se révélant par la coloration sont environ 10 fois plus élevées que celles qui sont indiquées par le tableau de SCHAEFFER. »

Nos propres résultats confirment donc cette déclaration. Nous trouvons même de plus grands écarts (pour les doses les plus faibles) que le Professeur KLEIN. Nos chiffres sont basés sur un dosage réel et direct du fer des caséines. Nous ignorons la méthode qui fut employée par KLEIN.

Le Dr GRIMMER, chargé à l'époque de donner une explication de ces résultats, qu'il qualifie à juste titre d'« étranges », constate seulement qu'il est nécessaire d'augmenter la quantité de sulfhydrate d'ammoniaque (ce que nous avons également observé) et d'employer ce réactif fraîchement préparé. Mais ces modifications ne se traduisent pas par des différences susceptibles d'expliquer les écarts observés, puisqu'elles n'entraînent que des décalages d'une teinte ou deux dans les cas les plus défavorables.

Les gros écarts observés, par exemple l'écart relatif à la teinte n° 2 (0 mgr. 3 Fe_2O_3 , d'après SCHAEFFER, et environ 10 mgr. %, selon nous), ne sont pas expliqués par le Dr GRIMMER, qui, d'ailleurs, ne parle pas dans son mémoire de l'influence du mûrissage préalable de la caséine en présence d'ammoniaque.

Il reconnaît toutefois que « ... même en augmentant la dose de sulfhydrate d'ammoniaque, des quantités de fer inférieures ne peuvent être révélées ».

Il faut bien admettre, comme nous l'avons fait, qu'il se produit, pendant la solubilisation de la caséine par l'ammoniaque, une réaction chimique qui masque une partie du fer à l'action ultérieure du sulfhydrate.

Il semble que ce point de vue n'ait été envisagé par aucun des auteurs qui se sont occupés de la question.

III. DE LA NÉCESSITÉ DE POUVOIR FAIRE UN DOSAGE EXACT DU FER DANS LES CASÉINES.

Toutes les raisons que nous avons exposées montrent clairement la nécessité de pouvoir *doser vraiment* le fer des caséines.

À ces raisons, vient s'en ajouter une autre.

On accuse souvent les moulins à caséine à broyeur métallique d'introduire du fer dans les caséines.

Des essais de *dosage* du fer *total* nous ont montré, qu'en fait, il n'en est rien. Des essais de fabrication de fromage ont pleinement confirmé ce résultat.

Toutefois, on peut redouter l'introduction dans les caséines de fer métallique d'origines diverses.

Or, la méthode Schaeffer est parfaitement impuissante à déceler cette pollution, car elle ne réagit que sur du fer soluble (1). Nous avons

(1) La méthode Buttenschön éviterait cette critique, mais elle ne peut pas être améliorée par le mûrissage.

réalisé des mélanges de caséines et de limaille de fer à 500 mgr. de fer pour 100 gr. de caséine sans fer et nous n'avons obtenu aucune teinte au Schaeffer.

Toutefois, en conservant la pâte obtenue pendant quelques temps, on note l'apparition de points vert noir, qui seraient évidemment très préjudiciables à l'aspect du fromage et qui sont dus à la lente dissolution de particules métalliques dans la masse.

Il se forme des îlots ferrugineux qui, en l'absence d'agitation, ne se répartissent pas dans la masse. D'ailleurs, même en agitant, au-dessus d'une certaine dose de fer, on dépasserait rapidement les teneurs au-dessous desquelles le fer soluble mélangé à la matière albuminoïde semble s'y combiner et être masqué.

Il apparaît donc comme prudent lorsque la méthode Schaeffer a déclaré une caséine acceptable, de doser directement le fer *total* (soluble et insoluble) par une autre méthode.

(On ne peut songer à améliorer le Buttenschön pour cette fin, car il ne dose pas le fer organique de l'intérieur des grains de caséine.)

La chose n'apparaît pas comme très aisée. En effet :

1° La calcination de la caséine est une opération très longue et très délicate. Si cette opération se fait dans un moufle en terre réfractaire, on court le risque d'introduire du fer dans l'échantillon, ce que l'expérience a confirmé. (Il suffit de 0 mgr. 25 de fer introduit accidentellement pour enrichir de 5 mgr. pour 100 gr. une prise d'essai de 5 gr. et faire condamner une caséine acceptable.)

La calcination dans un four en silice n'est pas sans difficultés, car il y a toujours des parties métalliques au voisinage.

2° Le titrage au permanganate (après dissolution et réduction des cendres) est très difficilement utilisable. Si on a opéré sur 5 gr., il faut (pour une teneur de 0,01 %) utiliser 1/2 cm³ de MnO⁴K N/50 pour faire le titrage. Avec la liqueur utilisée dans les analyses d'eaux (N/80), le volume utilisé augmente, mais le titrage est assez délicat.

De toute façon, cette méthode est employable, mais peu pratique, très longue (un ou deux jours de calcination pour les cendres) et d'emploi difficile.

En outre, cette méthode dose également le manganèse que contiennent les caséines, puisque l'on ramène tous les sels au minimum avant le titrage..

Nous avons pensé qu'il vaudrait mieux recourir aux méthodes d'attaque par voie humide et ne pas passer par le permanganate.

Nous avons adopté la méthode Kjeldahl pour l'attaque et le sulfocyanure pour le titrage que nous faisons colorimétriquement.

Toutefois, la méthode Kjeldahl classique (avec Hg ou SO⁴Cu comme catalyseurs) était inemployable en raison de la formation de

sulfocyanure de mercure (gris), de sulfocyanure de cuivre (vert jaune).

Nous avons adopté le sulfate de manganèse, dont le sulfocyanure blanc est très soluble et incolore en milieu faiblement sulfurique.

Mode opératoire arrêté :

2 grammes de caséine sont attaqués par 25 cm³ d'acide sulfurique en présence de 10 gr. de sulfate de potassium, qui facilite l'attaque en élevant le point d'ébullition de l'acide, et de 2 gr. de sulfate de manganèse.

(Tous ces réactifs doivent être purs et exempts de fer.)

L'attaque complète dure environ cinq heures.

On refroidit et dilue à 250 au minimum (1), ou mieux 500 cm³. Une partie de cette liqueur peut d'ailleurs servir au dosage de l'azote.

On prélève 25 cm³ de cette solution, parfaitement incolore. On l'introduit dans une éprouvette à pied bouchant à l'émeri et bien rincée aux acides et à l'eau distillée. On ajoute 3 cm³ de sulfocyanure de potassium à 10 % (2), exempt de fer.

La comparaison de la teinte ainsi obtenue avec des teintes produites à l'aide d'étalons de fer est rarement possible, en raison de la présence fréquente de cuivre, dont le sulfocyanure vert jaune modifie la teinte de l'ensemble. Il convient donc de rassembler la teinte du sulfocyanure ferrique dans 10, ou mieux 20 cm³ d'éther sulfurique exempt de fer, où le sulfocyanure de cuivre est insoluble à de faibles concentrations.

On prépare de la même façon un témoin avec 1 cm³ (par exemple) d'une solution contenant 10 mgr. de fer par litre, 23 cm³ d'eau distillée, 1 cm³ d'acide sulfurique pur (on refroidit le mélange), puis 3 cm³ de sulfocyanure à 10 % et 10, ou mieux 20 cm³ d'éther sulfurique. On agite violemment une minute et laisse reposer. L'éther surnageant des deux éprouvettes est prélevé avec des pipettes très propres et comparé au colorimètre.

La liqueur éthérée de l'essai présente une tonalité exactement comparable à celle de l'étalon de fer pur.

S'il y a égalité des teintes dans le cas où on aurait dilué à 250 cm³, la teneur en fer de la substance est de 0,005 %.

Cette méthode permet d'apprécier rapidement et avec une précision d'environ 10 % des teneurs en fer de l'ordre de quelques milligrammes pour 100 gr. (3).

(1) Au-dessous de cette dilution (10 % d'acide sulfurique), le sulfocyanure n'est pas suffisamment stable.

(2) La quantité de sulfocyanure doit être supérieure à un minimum au-dessous duquel l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de réactif introduit. Ce minimum étant atteint, la teinte n'est proportionnelle qu'à la quantité de fer. Il ne faut donc pas descendre au-dessous de la quantité indiquée.

(3) Cette méthode est applicable au dosage du fer dans d'autres matières organiques difficiles à attaquer.

REMARQUES :

1. Cette méthode, malgré son apparente facilité, exige de grandes précautions sous le rapport de l'extrême propreté de la verrerie, qui doit être, au moment de l'emploi, rincée à l'eau acidulée, puis à l'eau distillée. Si on prend les précautions nécessaires, des dosages faits en double donnent des résultats identiques à 10 % près, ce qui est largement suffisant ici.

2. Malgré la difficulté de la méthode de dosage au permanganate appliquée sur les cendres de la caséine, nous l'avons comparée à la méthode précédente.

Voici quelques-uns des résultats obtenus :

	Cendres et MnO ⁴ -K	Kjeldahl et sulfocyanure
Fer en mgr. pour 100 gr. de caséine : N° 1.....	0,009	0,008
N° 2.....	0,014	0,014
N° 3.....	0,018	0,016
N° 4.....	0,0418	0,040

Les concordances obtenues sont satisfaisantes.

La méthode proposée sera donc utilisée avec profit toutes les fois qu'on aura besoin de la teneur exacte en fer total d'une caséine.

* * *

TROISIÈME PARTIE

L'ÉPREUVE PRATIQUE DE FABRICATION ET LES CONCLUSIONS QU'ELLE PERMET DE TIRER QUANT À L'EXAMEN DES CASÉINES PAR LES MÉTHODES PRÉCÉDENTES

Des essais pratiques de fabrication de fromage de Harz ont donné satisfaction jusqu'à des doses de fer de l'ordre de 10-13 mgr. (même sous la forme soluble) pour 100 gr. de caséine.

Nous supposons bien que les produits ainsi fabriqués ont été consommés assez rapidement, c'est-à-dire avant 5 semaines, temps au bout duquel il faut reconnaître qu'un commencement de teinte grise a été observé sur des produits conservés à l'air et à la lumière.

Nous répétons que ces caséines, qui contiennent plus de fer que les caséines Nouvelle-Zélande, (1) ne seraient pas utilisables pour fabriquer des fromages destinés à être conservés plus de 5 semaines.

Des caséines de cette nature donnent des teintes égales à la teinte n° 2 ou rarement supérieures, mais n'atteignent pas la teinte limite n° 3, en utilisant le mode opératoire initial du Dr SCHAEFFER.

Nous estimons que, pour se réserver une marge de sécurité suffisante, on ne devrait pas utiliser de caséines contenant plus de 10 mgr. de fer pour cent, c'est-à-dire donnant des teintes *au plus égales à la*

(1) Qui n'en contiennent que 5 à 7 mgr. ‰.

teinte n° 2 du mode opératoire ancien. Nous sommes ainsi plus sévère que le Dr SCHAEFFER lui-même, mais beaucoup moins que les chimistes qui ont modifié sa méthode et qui refusent des caséines convenables (*sous la réserve ci-dessus*) titrant par exemple 8 à 10 mgr. pour cent.

Ces diverses considérations nous permettent maintenant de voir clair dans cette question et de tirer, en connaissance de cause, des conclusions qui pourraient servir de base à l'étude de cette question de l'examen des caséines en vue de la fabrication du Harz-Käse.

* * *

CONCLUSIONS PRATIQUES

Deux cas sont à considérer, suivant qu'on veut faire du fromage qui doit obligatoirement se conserver intact pendant plus de 4 ou 5 semaines après la fabrication, ou que l'on est assuré (comme c'est le cas de beaucoup d'industriels) que la consommation aura lieu dans les premières semaines qui suivent la fabrication.

Nos conclusions concernant l'examen des caséines et ensuite l'interprétation à donner aux résultats de l'examen, sont les suivantes :

1. Examen des caséines.

Une caséine destinée à la fabrication du Harz-Käse sera soumise à l'essai suivant (procédé Schaeffer original que nous avons légèrement modifié pour le rendre plus pratique) :

10 gr. de caséine sont mélangés dans une capsule de porcelaine avec 20 cm³ d'eau distillée. On laisse gonfler la caséine pendant un quart d'heure. On ajoute ensuite 8 à 10 cm³ d'ammoniaque pure à 25 % (ammoniaque à 22° Bé additionnée de 3 volumes d'eau).

On laisse *mûrir complètement* la caséine jusqu'à obtention d'une pâte parfaitement homogène, translucide et *sans grains*.

Il est recommandé d'agiter de temps en temps la masse visqueuse obtenue. La durée de mûrissage dépend de la nature et du degré de finesse de la caséine. Elle peut varier d'une demi-heure à quelques heures.

Quand le mûrissage complet est obtenu, ajouter 10 gouttes d'une solution saturée (et récente) de sulfhydrate d'ammonium, préparée en faisant passer de l'hydrogène sulfuré (lavé) jusqu'à refus dans l'ammoniaque à 22° Bé.

Brasser la masse avec soin et examiner la teinte obtenue au bout de 10 à 15 minutes.

2. Interprétation.

Se reporter au tableau des teintes joint au présent article.

- A. **Caséines destinées à faire du fromage devant rester intact pendant plus de 4 à 5 semaines.** (Exportation, conservation prolongée.)

L'essai Schaeffer original (mode opératoire ci-dessus) ne doit donner aucune coloration.

(Remarque : L'essai Schaeffer « interprété », que l'on peut faire dans ce cas, ne doit pas non plus donner de coloration.)

- B. **Caséines destinées à faire du fromage devant être consommé sur place ou dans les premières semaines qui suivent la fabrication** (cas très fréquent).

La teinte obtenue au Schaeffer original (mode opératoire ci-dessus) doit être inférieure à la teinte n° 2 du tableau.

3. Remarques.

Si l'on suspecte la caséine de contenir du fer-insoluble (non décelé dans les conditions de l'essai précédent), faire le dosage direct du fer total en utilisant la méthode indiquée dans le cours de l'article (attaque Kjeldahl en présence de SO^4Mn et titrage colorimétrique au sulfocyanure).

Si le dosage du fer total donne un résultat inférieur à 10-12 mgr. (en Fe pour 100 gr. de caséine), celle-ci est utilisable, dans les conditions de conservation prévues.

A 13-15 mgr., on arrive à la limite de possibilité d'emploi dans les mêmes conditions.

Il est extrêmement rare qu'une caséine contienne du fer insoluble. On peut, en général, se contenter de l'essai Schaeffer par le procédé que nous venons de préconiser sans recourir au dosage direct du fer total. L'essai Schaeffer peut d'ailleurs être pratiqué par les fabricants de fromage eux-mêmes. Dans les cas douteux, le laboratoire aura avantage à recourir au dosage direct, mais en ayant soin de prendre de grandes précautions, comme il a été indiqué, pour éviter d'introduire accidentellement les traces de fer, qui feraient refuser à tort le produit.

* * *

Rappelons en terminant, pour ceux qui seraient tentés de considérer comme artificielle et aléatoire cette subdivision des caséines en deux qualités, que c'est bien sur la foi de *résultats industriels satisfaisants obtenus de façon courante*, que nous avons été amené à conseiller l'emploi dans la fabrication du Harz-Käse, de certaines caséines françaises pauvres en fer, ordinairement refusées par les laboratoires allemands.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Dr A. SCHAEFFER. Ueber die Verfaerbung von Sauermilchkaesen durch Eisen und Kupfersalze und den analytischen Nachweis dieser Metalle im Kaesequarg. (*Milchwirtschaftliche Zentralblatt*, Heft 10, Oct. 1909.)
- [2] Dr GRIMMER. Der Dr. Schaeffersche Quargprober. (*Milchwirtschaft. Zentralblatt*, Heft 5, Mai 1911.)
- [3] Dr LESNÉ, R. CLÉMENT et P. ZIZINE. Sur la teneur en fer du lait de femme et du lait de certains mammifères. (*Bulletin de la Société de Chimie biologique*, T. XII, décembre 1930, p. 1410.)
- [4] G. DENIGÈS. *C. R. Ac. Sc.*, 9 février 1925.

BIBLIOGRAPHIE ANALYTIQUE

1^o LES LIVRES

STECK (W.). — **Die latente Infektion der Milchdrüse** (Infection latente de la glande mammaire). Un vol. broché de 111 pp., avec 5 fig. et 20 tableaux. M. et H. Schaper, Ed. Hannover. 1930. Prix : RM. 6.

W. S. est professeur titulaire de la chaire de Pathologie spéciale et de thérapeutique, en même temps que directeur de la Clinique de Médecine vétérinaire de l'Université de Berne. L'ouvrage très intéressant qu'il nous présente est le résultat de nombreux travaux exécutés tant à Berne qu'à l'Institut vétérinaire de l'Union Sud-Africaine.

Ainsi que le dit lui-même S., les observations qu'il a faites ne sont pas, pour la plupart, spécialement typiques des glandes mammaires et du lait ; elles le sont des infections en général ; mais, comme les observations sur le pis sont plus faciles à relever, elles permettent d'étudier des questions qui ne sont généralement pas faciles à élucider.

Il en reste, du reste, encore un assez grand nombre à éclaircir. Toutefois, des résultats intéressants sont déjà obtenus, et les questions qui n'ont pas encore été étudiées suffisamment le seront plus amplement ultérieurement.

Il n'y a pas infection du pis sans inflammation : telle est une des constatations importantes faites. Les suites d'une infection latente constatée par un examen superficiel apparaissent clairement quand on emploie une méthode appropriée. Si on ajoute l'état infectieux latent, tel qu'il se produit dans les glandes mammaires, au schéma des inflammations chroniques perraiguës, aiguës et subaiguës, on peut le qualifier d'hyperschronique.

Malgré les assertions fréquemment émises à ce sujet, même dans la littérature récente (SCHLAEPI, 1928), S. insiste sur le fait que les microbes du pis n'ont pas une existence saprophyte, et l'on peut toujours parler d'une inflammation en miniature.

Un autre fait certain est que le caractère de l'inflammation observée dépend nettement de l'importance de l'infection, ce dernier terme répondant à la concentration des bactéries vivantes à un moment donné.

C. WOLF.