

II. Examen bactériologique.

L'ensemencement aseptique sur tubes de lait stérile ont donné une première coagulation à $+ 35^{\circ}$, après 3 jours d'étuve seulement, avec une acidité de 229° D., puis une seconde coagulation sur tubes de lait stérile à $+ 40^{\circ}$, après 11 jours d'étuve, avec une acidité de 160° D.

Après 4 jours d'étuve à 40° , poussa seul un *bâtonnet thermophile*, long et filiforme, prenant le Gram, après ensemencements directs sur lait et tous milieux gélosés.

Après 10 jours, sur gélose, poussèrent des colonies rondes et blanches (levures du lactose = *saccharomyces acidi lactici*) et des colonies roses (du genre *torula*) ainsi que de très petites colonies blanches communes (du genre *Micr. acidi lactis*).

CONCLUSIONS.

Il ressort de la composition chimique de ces laits une grande richesse en lactose, propice aux fermentations acidifiantes, aux ferments du yoghourt et du képhyr, équilibrée par une faible quantité de chlorures (constante moléculaire normale et prouvant une forte concentration du sérum). La quantité de caséine (24 gr. 05 par litre) est faible, tandis que celle des cendres (8 gr. 95) est assez élevée.

La densité, les matières grasses et l'extrait total sont ceux d'un lait normal.

Les microorganismes qui ont été isolés sont presque tous thermophiles, travaillant surtout sur le lactose, acidifiant fortement le milieu.

De tels laits se prêtent donc favorablement à la fabrication du yoghourt ou du képhyr, selon les méthodes originales.

NOUVELLE THÉORIE CONCERNANT L'ACTION DE LA PRÉSURE SUR LA CASÉINE DU LAIT (1)

par

MAURICE BEAU

Ingénieur agronome.

I. THÉORIE CHIMIQUE DU DÉDOUBLEMENT.

C'est au chimiste suédois O. HAMMARSTEN que l'on doit à la fois les premiers travaux d'ensemble et la première théorie en ce qui

(1) Le présent article est la synthèse des idées exposées par l'auteur dans deux notes précédentes : la première, intitulée « Sur la coagulation du lait par la présure », présentée le 1^{er} octobre 1931 au XI^e Congrès de Chimie industrielle à Paris (voir comptes rendus de ce congrès dans le numéro spécial de *Chimie et Industrie* de mars 1932) ; la seconde, intitulée « Comment la présure agit sur la caséine du lait », parue dans le *Volume jubilaire en l'honneur du Professeur Ch. Porcher*, en avril 1932.

concerne l'action de la présure sur la caséine. Travaux et théorie datent d'environ soixante ans et ont paru successivement de 1870 à 1875 [1]. La théorie est d'ordre purement chimique ; elle explique l'action de la présure sur la caséine par un dédoublement ou « clivage » (*klyfning* en suédois) de la caséine, de la manière suivante.

Si l'on traite du lait écrémé à la centrifuge par un acide minéral ou organique fort, mais dilué, et sans excès, il se précipite une matière pulvérulente, qui est une protéine et que l'on regarde comme étant la caséine proprement dite ; elle ne correspond qu'à une partie des matières albuminoïdes du lait (environ les 4/5), le reste, qui ne précipite pas, étant regardé comme une albumine : la lactalbumine.

La protéine précipitée par un acide peut se redissoudre dans un alcali. En la précipitant et redissolvant ainsi plusieurs fois de suite pour la purifier, puis en la lavant et la séchant, on obtient finalement une poudre fine et blanche, ne renfermant plus que de très petites quantités de matières minérales (moins de 0,5 %). C'est ce qu'on peut appeler la *caséine pure*. Cette précipitation, qui a lieu pour un taux bien déterminé d'acide et se produit instantanément et complètement dès que ce taux est atteint, a donc le caractère d'une action chimique.

La caséine pure est insoluble dans l'eau, mais elle se dissout dans les alcalis ; et comme c'est là une opération inverse de celle qui a produit la précipitation, on en conclut que cette dissolution est aussi une action chimique, consistant en une combinaison de la caséine avec l'alcali, donnant naissance à un *caséinate*. C'est ainsi qu'on obtient avec la chaux du caséinate de chaux.

Ce résultat provient de ce que la molécule de caséine, dont le poids moléculaire est inconnu, mais, d'après les dernières estimations, supérieur à 12.000, comprend un gros radical R indéterminé, plus un certain nombre de groupes amines NH^2 et de groupes carboxyles COOH , ceux-ci étant prédominants et donnant par suite une réaction acide à la caséine (au moins vis-à-vis de la phénolphthaléine). A vrai dire ces solutions sont des suspensions colloïdales, les caséinates de chaux montrant à l'ultra-microscope des micelles ayant comme dimensions transversales de 20 à 50 millimicrons.

Quand la proportion de chaux est suffisante, ces suspensions sont nettement alcalines, mais on peut les neutraliser vis-à-vis de divers réactifs colorés sans qu'elles précipitent. Si en particulier on emploie pour cela de l'acide phosphorique, on dit qu'on obtient ainsi du *phosphocaséinate* de chaux (*caseinkalkphosphat* en suédois) ; c'est du moins ainsi que l'appela HAMMARSTEN, sans que cette

expression dit-il, impliquât dans son esprit aucune idée de combinaison chimique définie.

Les solutions de phosphocaséinates de chaux sont aussi en réalité des suspensions colloïdales, dont les micelles, visibles à l'ultra-microscope, ont comme dimensions transversales de 40 à 120 millimicrons. Elles ont tout à fait l'aspect du lait écrémé et se comportent comme lui : d'abord vis-à-vis des acides, qui en précipitent la caséine pure ; ensuite vis-à-vis de la présure, qui les coagulent en un bloc porcelainique rétractile.

HAMMARSTEN en a conclu, non sans raison, que *la caséine se trouve dans le lait sous forme de phosphocaséinate de chaux*, auquel l'analyse assigne par litre de lait la composition moyenne suivante :

Caséine	30 gr.
CaO	1 gr. 275
P ² O ⁵	1 gr. 125

Ces chiffres représentent vis-à-vis de 30 gr. de caséine une teneur en matières minérales de 8 %, et le rapport du calcium au phosphore est là de 1,85.

Si l'on traite maintenant le phosphocaséinate de chaux ainsi obtenu par la présure, on obtient par coagulation et lavage une matière présentant sensiblement la même composition que ci-dessus, c'est-à-dire contenant 8 % de matières minérales, dans lesquelles le rapport du calcium au phosphore est aussi très voisin de 1,85. C'est la *caséine présure*.

On obtient un résultat analogue si l'on précipite le phosphocaséinate de chaux en saturant sa suspension par un excès de sel minéral neutre (NaCl ou SO⁴Mg, par exemple, ajoutés en poudre). Il se produit alors une sorte de déshydratation du phosphocaséinate de chaux et le précipité présente également une teneur de 8 % en matières minérales avec un rapport du calcium au phosphore voisin de 1,85.

N'y a-t-il donc aucune différence entre cette déshydratation et la coagulation par la présure ? Evidemment si, car la première est une simple élimination physique avec production immédiate d'un précipité pulvérulent, tandis que la seconde est une coagulation en masse avec production d'un coagulum occupant tout le volume liquide.

La coagulation par la présure est donc quelque chose de spécial, et pour l'expliquer HAMMARSTEN suppose que, dans cette opération, la molécule de caséine se dédouble en deux corps : l'un (la paracaséine) est insoluble en présence de sels de chaux et coagule sous forme de phosphoparacaséinate de chaux ; l'autre est soluble ; on le retrouve par un dosage d'azote dans le petit-lait, et HAMMARSTEN l'appelle pour cette raison la protéine du petit-lait (*ægghvi-*

tan i vasslan en suédois) ; PORCHER [2] l'appelle la protéose, et ses analyses l'ont conduit à fixer la quantité de cette dernière à 4 % du poids de la caséine primitive.

C'est la théorie purement chimique du dédoublement, du « clivage » de la caséine. Mais cette dernière expression désigne habituellement la séparation purement physique et indéfiniment renouvelable d'un minéral feuilleté (comme l'ardoise ou le mica) en lames parallèles toutes identiques de composition. Elle ne peut évidemment pas s'appliquer dans le cas de la caséine, laquelle donne naissance une seule fois à deux corps différents physiquement et chimiquement d'elle-même : la paracaséine et la protéose.

Du reste cette théorie est surtout basée sur la constatation de la *protéose*, c'est-à-dire d'un léger excédent d'azote dans les petits-laits ou sérums, en particulier quand on part de suspensions pures de phosphocaséinates de chaux. Le tout est de savoir si cet azote provient d'un dédoublement chimique de la caséine par la présure ou de toute autre cause.

HAMMARSTEN avait d'abord pensé que le phosphocaséinate de chaux était légèrement soluble dans l'eau ; la protéose présente d'ailleurs les propriétés des peptones et ne serait par suite qu'un simple produit de solubilisation et non un produit de dédoublement.

Mais HAMMARSTEN ne s'est pas arrêté à cette idée, et il faut sans doute en chercher la raison dans les opinions qui régnaient à cette époque dans le monde scientifique. C'est la chimie, avec l'école allemande de LIEBIG, qui dominait la science vers 1870, et une simple explication physique d'un phénomène biologique comme la coagulation du lait ne pouvait alors satisfaire les esprits.

Cependant un peu plus tard E. DUCLAUX [3] mit déjà en doute l'existence même de la protéose ; mais sans aller si loin, on peut remarquer que la présure s'accompagne toujours d'une autre diastase digestive, c'est-à-dire solubilisante (la pepsine), et présente par suite un certain pouvoir protéolytique, sans doute à cause de la difficulté de séparer entièrement les deux diastases. Enfin W. VAN DAM [4] conclut, à la suite de ses travaux sur la question, à l'identité de la présure et de la pepsine, lesquelles ne forment qu'un seul et même corps, agissant tantôt comme coagulant tantôt comme solubilisant, suivant les circonstances ambiantes, notamment suivant le pH. L'existence de la protéose ne prouve donc rien en faveur du dédoublement de la caséine.

Quant à la *paracaséine*, lorsqu'on veut la préparer, on commence par coaguler par la présure le phosphocaséinate de chaux, puis on redissout ce dernier et on le traite par des acides minéraux forts, les opérations étant répétées plusieurs fois de suite, comme dans la préparation de la caséine pure. Or ce sont là des actions chimiques

brutales ; les acides en particulier dissolvent et éliminent la chaux et l'acide phosphorique présents, si bien que ce que l'on obtient en dernier ressort, c'est, sinon la caséine pure elle-même, du moins quelque chose de très voisin.

Ce qui le prouve, c'est que la paracaséine a des propriétés presque identiques à celles de la caséine : même analyse élémentaire, même teneur en phosphore, même pouvoir rotatoire en solution, même faculté de se combiner avec les alcalis. Bref, la plupart des auteurs concluent à l'identité des deux corps.

Sur deux points seulement la paracaséine paraît se comporter différemment de la caséine.

1^o L. L. VAN SLYKE [5] a préparé des paracaséinates alcalins tout à fait analogues aux caséinates, sauf qu'ils contiendraient à égalité d'acidité ou d'alcalinité, une quantité de base double de celle des caséinates correspondants ; d'où résulterait que la paracaséine aurait un poids moléculaire égal à la moitié de celui de la caséine et que l'action de la présure consisterait en un dédoublement de la molécule de caséine en deux molécules de paracaséine. Mais nous n'avons pas, en ce qui nous concerne, constaté cette différence ; ayant pris deux échantillons de caséine et de paracaséine pures (1) et les ayant neutralisés par la soude ou la chaux, nous avons trouvé qu'il fallait la même quantité d'alcali pour le même poids des deux corps, soit par exemple 10 mgr. 2 de soude (NaOH) ou 7 mgr. 0 de chaux (CaO) pour neutraliser 0 gr. 3 de caséine ou de paracaséine. Comme d'autre part on ignore à vrai dire le poids moléculaire exact de la caséine (qui varie suivant les auteurs de 8.000 à 200.000), et que les caséinates, de même que les paracaséinates, ne sont pas des corps définis, cette théorie de VAN SLYKE paraît peu vraisemblable ; remarquons du reste qu'il n'y est plus question de la protéose.

2^o Ch. PORCHER [2] prépare un paracaséinate légèrement acide (de pH inférieur à 7) et lui ajoute du chlorure de calcium ; le paracaséinate coagule ; dans les mêmes conditions le caséinate correspondant ne coagule pas, à moins de lui ajouter également de la présure. Cette expérience fondamentale semble donc montrer que l'action de cette dernière a déjà eu lieu dans le paracaséinate et que la paracaséine est une caséine déjà transformée.

Mais les choses ne sont pas tout à fait aussi simples ni aussi nettes : les caséinates comme les paracaséinates précipitent par addition de CaCl_2 sans présure, mais nécessitent pour cela des doses

(1) Dans ces essais comme dans les suivants, nous avons opéré sur une caséine et une paracaséine pures, préparées à Lyon au laboratoire du Professeur PORCHER par M^{lle} BAUDRAND, et les essais ont été faits à Gournay-en-Bray au laboratoire de la maison Pommel par le chimiste de cette dernière : M. LAJEUNESSE. Nous remercions MM. PORCHER et POMMEL, M^{lle}s BAUDRAND et M. LAJEUNESSE de l'aide qu'ils nous ont apportée à cette occasion.

plus élevées de ce sel. Voici par exemple les résultats d'essais faits sur des caséinates et paracagéinates correspondants additionnés d'une solution de CaCl_2 à 1 % jusqu'à précipitation :

Caséinates ou paracagéinates à	Centimètres cubes de solution de CaCl_2 pour précipiter 10 cm ³ de	
	caséinate	paracagéinate
500 de CaO (acide).....	0,8	0,3
600 de CaO (neutre)	ne précipite pas	précipite
1.250 de CaO (alcalin)	3,1	2,5

Ainsi donc il faut dans tous les cas moins de chlorure de calcium pour précipiter un paracagéinate que le caséinate correspondant (1). Mais ceci ne prouve naturellement pas que la paracagéine soit un produit de dédoublement de la caséine ; cette expérience — la seule du reste qui permette de différencier la caséine de la paracagéine — prouve seulement que la paracagéine est de la caséine modifiée, sans nous donner la moindre idée sur la nature de cette modification.

En résumé, toute cette théorie chimique de HAMMARSTEN se réduit à deux points principaux.

Le premier consiste à dire que la caséine se trouve dans le lait sous forme de phosphocagéinate de chaux. Cette partie de la théorie a été pleinement confirmée par la pratique, à qui elle a rendu de réels services, tant en industrie caséinière qu'en industrie fromagère.

Le second consiste à dire que l'action de la présure produit un dédoublement de la caséine en paracagéine et protéose. Cette partie de la théorie n'est pas confirmée par les faits et, de plus, elle n'a rendu aucun service dans la pratique, pas plus en industrie caséinière qu'en industrie fromagère.

D'ailleurs HAMMARSTEN est revenu lui-même, après 1900, sur ses premières idées à ce sujet, dans les éditions successives de son *Traité de chimie physiologique* [6]. Il dit notamment :

Dans l'édition de 1904 : « La majeure partie de la caséine se sépare dans la coagulation par la présure sous forme d'un corps très voisin de la caséine : la paracagéine. Malgré cela, il n'est pas possible d'admettre sans autre, et pour de nombreuses raisons, qu'il se produise là un clivage de la caséine. »

Dans l'édition de 1926 : « Il n'est pas impossible que la protéine du petit-lait ne soit qu'une impureté de la caséine restant en solution. »

(1) Ce résultat est confirmé par le travail de M^{lle} BRIGANDO, intitulé « L'action du chlorure de calcium sur les caséinates et paracagéinates de calcium », paru dans le *Volume jubilaire en l'honneur du Professeur Ch. Porcher* (Avril 1932).

Il faut nécessairement en conclure que cette théorie chimique du dédoublement, malgré son ancienneté et malgré son adoption par la presque totalité des savants européens et américains, ne correspond pas à la réalité. Elle ne tient d'ailleurs aucun compte des idées modernes sur les colloïdes et les diastases.

II. THÉORIE PHYSIQUE DE L'UNITÉ.

Deux auteurs ont refusé nettement d'admettre la théorie du dédoublement de HAMMARSTEN.

Le premier est E. DUCLAUX [3], pour lequel il n'existe dans le lait qu'une seule espèce de protéine : la caséine, partie à l'état insoluble (suspension vraie), partie à l'état « glonflé ou muqueux » (suspension colloïdale), partie à l'état soluble (solution colloïdale). Cet auteur sépare les deux premières formes de la dernière (la lactalbumine de HAMMARSTEN) par une simple filtration sur bougie Chamberland en porcelaine poreuse.

Ayant opéré cette filtration sur le même lait, empréuré d'une part et non empréuré d'autre part, il trouve dans les deux filtrats la même quantité d'azote soluble et en conclut à la fausseté de la théorie de HAMMARSTEN.

Il n'admet pas non plus que le phosphate de chaux joue un rôle primordial dans la coagulation par la présure, qu'il considère comme étant une « simple modification physique dans la texture du corps qui se coagule », une sorte de condensation ou de feutrage, donnant naissance à un réseau ou à un filet à mailles élastiques. C'est là une théorie purement physique, qui s'oppose à la théorie chimique de HAMMARSTEN, mais que DUCLAUX n'a pas poussée plus loin, sans doute à cause de ses autres occupations à l'Institut Pasteur.

Le second auteur qui n'admet pas la théorie de HAMMARSTEN est W. VAN DAM [4], pour les raisons indiquées ci-dessus, raisons basées sur le plus ou moins grand pouvoir solubilisant qui accompagne toujours le pouvoir coagulant de la présure.

Trois autres auteurs ont repoussé, pour ainsi dire indirectement, la théorie de HAMMARSTEN, en refusant, comme DUCLAUX, d'admettre l'existence de plusieurs protéines différentes dans le lait. Ce sont :

VANDERVELDE [7], qui, critiquant la classification des protéines du lait, conclut que cette classification est purement arbitraire et paraît par suite se ranger à l'idée de DUCLAUX.

L. LINDET et P. AMMAN [8], qui admettent la présence dans le lait de deux caséines (α et β) : la première en partie insoluble, en partie soluble ; la seconde entièrement soluble.

Le fait de n'admettre que de la ou des caséines dans le lait conduit

indirectement à nier l'existence de la protéose et par suite celle de la paracaséine ; car comment distinguer ces diverses protéines les unes des autres, puisqu'il n'y a que des caséines en présence.

Toutefois ces auteurs n'ont pas non plus étudié la question plus à fond.

Mais les théories colloïdales modernes permettent également d'aborder le problème : les colloïdes sont en solution ou en suspension sous forme de micelles nageant dans un liquide intermicellaire contenant divers électrolytes, qui déterminent certains facteurs physiques (tels la pression osmotique, la tension superficielle, l'état électrique) d'où résulte l'équilibre de l'ensemble, et par suite sa stabilité ou son instabilité.

Si l'on fait varier la nature ou la concentration de ces électrolytes, on modifie simultanément les facteurs physiques en question et il en résulte soit une augmentation de la stabilité de la micelle, qui peut aller jusqu'à la stabilité totale, c'est-à-dire jusqu'à la solution vraie, soit une diminution de cette stabilité, se traduisant par une insolubilisation.

Dans le lait les électrolytes sont constitués par tous les sels minéraux présents et la somme des facteurs physiques se traduit par la valeur du pH de l'ensemble. Si par addition d'un alcali on augmente le pH , on stabilise la suspension colloïdale de caséine jusqu'au moment où celle-ci est dissoute par l'alcali et transformée en peptones solubles. Si, au contraire, par addition d'un acide on diminue le pH , on détruit la stabilité de la suspension et la caséine précipite à l'état totalement insoluble.

Est-ce ainsi que les choses se passent dans la coagulation par la présure ? Evidemment non, car il ne se produit pas de solubilisation, et s'il y a insolubilisation, ce n'est pas par précipitation, puisque la masse insolubilisée ne tombe pas au fond, mais continue à remplir la totalité du volume liquide.

Autrement dit, au lieu d'un précipité, on obtient un *gel*, pourvu d'une certaine structure physique. Si nous examinons de plus près et objectivement ce qui se passe, voici ce que nous constatons :

La caséine est dans le lait sous forme de micelles colloïdales de phosphocasinat de chaux ayant de 40 à 120 millimicrons de diamètre, visibles à l'ultra-microscope, et constituées en conséquence par une agglomération d'un nombre déjà important de molécules. La caséine est donc là sous une forme qui paraît au moins partiellement condensée, l'agent de liaison des molécules étant le phosphate de chaux, puisque ce dernier précipite avec la caséine par simple saturation d'un sel minéral neutre.

Une fois la coagulation par la présure effectuée, on retrouve la caséine sous forme d'une masse élastique contenant toujours le

phosphate de chaux en question, ayant aussi la même composition élémentaire que précédemment, ne paraissant donc pas avoir changé au point de vue chimique, mais remplissant tout le volume liquide. Il semble que les micelles se soient gonflées et soudées ensemble pour former une sorte d'éponge rétractile.

La condensation des molécules s'est donc pour ainsi dire intensifiée, puisque les agrégats de molécules ont augmenté de dimensions ; il semble même qu'il n'y ait plus qu'un seul agrégat remplissant tout le volume liquide, avec une sorte de structure réticulaire, qui retient tout le sérum dans ses mailles.

Pour reprendre une expression de DUCLAUX, ce résultat rappelle bien plutôt un phénomène physique, comme l'osmose, qu'un phénomène chimique. En tout cas nous ne constatons là que des modifications dans l'état physique du phosphocaséinate de chaux, mais aucune modification chimique proprement dite, puisqu'en particulier la composition chimique n'a pas varié.

Cette action ne s'arrête du reste pas une fois le coagulum formé. La présure n'est en effet pas détruite ; elle est toujours présente, car on la retrouve, en particulier, dans les jus de fromages obtenus par forte pression [9] ; sous son influence le coagulum se rétracte et diminue de volume ; la condensation physique des molécules continue, en même temps que le sérum exsude de la masse.

La chaleur facilite ce travail de rétraction, de condensation et d'exsudation du sérum, cette dernière opération étant également accélérée en brassant et brisant la caillé. C'est ainsi que dans la fabrication de la caséine dite à la présure (ou caséine présure par opposition à la caséine lactique), on obtient, environ une heure après l'emprésurage, la température ayant été portée à 65°, un caillé réduit en petits grains, dont le volume total n'est plus que d'environ 10 % du volume du lait primitif, et qui lavé puis séché constitue précisément la caséine présure du commerce.

C'est un produit ne renfermant plus que 10 à 12 % d'eau, avec 8 % de cendres rapportées à l'extrait sec, constituées en majeure partie par du phosphate de chaux. Ce produit est insoluble dans l'eau ainsi que dans les acides et alcalis dilués. Mais ce corps solide est toujours un colloïde, au même titre que la corne et l'écaïlle ; comme celles-ci il est doué de propriétés plastiques, qui le font employer dans la fabrication des galalithes, aux lieu et place, précisément, de la corne et de l'écaïlle. Broyé en poudre fine et placé sous une presse hydraulique chauffée, il se soude à lui-même et forme une masse solide compacte, qui tannée au formol devient rigide et peut sous cette forme être percée, sciée, tournée, polie, etc.

On voit qu'à un premier examen objectif du phénomène, la coagulation apparaît comme une *condensation physique des molécules*

de caséine, avec *entraînement du phosphate de chaux*, phosphate qui semble jouer un certain rôle d'agent de liaison. *L'opération n'est pas instantanée*, mais s'étend sur une certaine durée, et la caséine coagulée conserve son caractère colloïdal.

Toute théorie de la coagulation doit donc pouvoir expliquer ces quatre groupes de constatations ; sinon elle sera incomplète. Or la théorie de HAMMARSTEN ne tient guère compte que de l'entraînement du phosphate de chaux, et sous cette forme, elle est parfaitement exacte. Quant à la théorie de DUCLAUX, elle ne tient compte que de la condensation physique des molécules.

Les deux théories sont donc incomplètes, même si on les additionne, ce qui du reste n'est guère faisable. Il faut bien dire aussi qu'elles n'ont été à peu près d'aucune utilité dans la pratique industrielle, et en particulier dans l'industrie de la caséine présure. C'est une remarque que nous avons faite depuis longtemps en tant qu'industriel caséinier. Ni dans cette industrie ni dans l'industrie fromagère, elles n'ont donné le moindre résultat d'ensemble, ni fait faire le moindre progrès.

Seule la partie de la théorie de HAMMARSTEN touchant la liaison qui existe entre la caséine et le phosphate de chaux a permis d'expliquer fort bien les différences qu'il y a entre les diverses sortes de caséines, en particulier entre la caséine présure et la caséine lactique ; elle s'est montrée également utile dans l'industrie fromagère, notamment en ce qui concerne l'action de l'acide lactique sur les caillés de fromagerie obtenus par la présure.

C'est cette absence d'utilité pratique et industrielle, jointe au peu de certitude scientifique de la théorie du dédoublement, d'une part, et au peu de développement de la théorie de l'unité, d'autre part, qui nous a amené à chercher une autre explication, une autre théorie, en nous basant sur les connaissances, tant pratiques que théoriques, tant industrielles que scientifiques, que nous avons acquises en ce qui concerne la caséine pendant vingt-cinq à trente années d'industrie caséinière et fromagère.

Pour y parvenir nous allons revenir à la précédente description objective des phénomènes, et chercher, en particulier, s'il n'y aurait pas d'autres opérations analogues, auxquelles on pourrait comparer les faits ci-dessus.

III. THÉORIE PHYSICO-CHIMIQUE DE LA POLYMÉRISATION.

A. ÉNONCÉ DE LA THÉORIE.

Nous retenons des théories précédentes les idées suivantes, qui seules ont été sanctionnées par la pratique du laboratoire et de l'industrie.

1° La caséine est dans le lait à l'état chimique de phosphocaséinate de chaux (HAMMARSTEN).

2° L'état physique de ce phosphocaséinate de chaux est un état « muqueux ou gonflé », disons colloïdal (DUCLAUX).

3° Les micelles colloïdales de caséine sont plurimoléculaires et présentent une certaine condensation physique.

Sur ces micelles colloïdales de phosphocaséinate de chaux nous faisons agir la présure, c'est-à-dire une diastase. Or les diastases sont des corps qu'on ne peut définir que par leurs actions ; impossible, en particulier, de les isoler à l'état pur, si bien même qu'on ne sait pas trop si ce sont de véritables corps ou bien de simples propriétés du protoplasme vivant dont elles sont issues, propriétés qui peuvent être, par macération, plus ou moins transférées à un liquide, comme on le fait dans la préparation des extraits de présure du commerce.

Les diastases sont caractérisées par deux faits.

1° Il y a une énorme disproportion entre la quantité de diastase qui agit et la quantité de produit transformé : 1 cm³ d'extrait de présure au 1/10.000 renfermant seulement quelques milligrammes de diastase, coagule 10 litres de lait.

2° La diastase se retrouve intacte à la fin de l'opération : on retrouve en effet la présure dans les fromages.

Les diastases ne semblent donc jouer que ce que l'on appelle « un rôle de présence », tout comme la mousse de platine dans la concentration de l'hydrogène ou dans sa combinaison avec l'oxygène à froid. Autrement dit l'action des diastases est une action catalytique, laquelle dans le cas de la présure doit produire la condensation physique progressive des molécules de phosphocaséinate de chaux, avec conservation du caractère colloïdal. Mais en quoi consiste cette action catalytique ? Pour y répondre nous nous adresserons à deux opérations importantes de l'industrie chimique, lesquelles nous paraissent avoir beaucoup d'analogie avec ce qui se passe dans le cas de la caséine : ce sont, d'une part, la production à partir des phénols des matières plastiques du genre de la bakélite et, d'autre part, la fabrication du glucose à partir de l'amidon.

La *préparation de la bakélite* ou, pour mieux dire, des bakélites, se fait en chauffant à des températures pouvant aller jusqu'à 200° un mélange de phénol, de formol et d'ammoniaque ; le résultat de l'opération est un corps composé des trois corps précédents, ressemblant à une résine, plus ou moins polymérisé ou plastique, la polymérisation et la plasticité augmentant avec le temps et la température, en même temps que la solubilité diminue. Ici il semble que ce soit la chaleur qui serve de catalyseur, et le formol et l'ammoniaque qui soient les plastifiants. En fin de compte, le corps obtenu possède comme la caséine des valences COOH et NH² ; il a comme

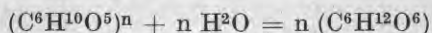
elle de ce fait une réaction plus ou moins amphotère et ses propriétés plastiques sont fonction de son degré de polymérisation. Préparée à basse température la bakélite est encore soluble dans divers solvants, les alcools méthylique et éthylique par exemple, avec lesquels elle donne des vernis ; elle est donc dépolymérisable ; c'est la bakélite « A ». Plus la température de préparation est élevée et dure longtemps, plus le produit devient insoluble, moins sa dépolymérisation est facile ; en fin de compte, elle devient impossible ; la polymérisation est devenue irréversible, et le produit, solide à toutes températures, est essentiellement plastique ; c'est la bakélite « C ». Entre ces deux extrêmes, il y a du reste tous les intermédiaires.

La préparation de la caséine présure présente de nombreuses analogies avec celle de la bakélite. Elle se fait en traitant par la présure le phosphocaséinate de chaux, c'est-à-dire le complexe formé de caséine, de chaux et d'acide phosphorique, et le produit obtenu contient ces trois corps et est essentiellement doué de plasticité. Du reste la chaleur seule donne un résultat analogue à celui de la présure, le lait et le phosphocaséinate de chaux coagulant sans présure vers 130°-140° en tubes scellés. Le phénomène devient de plus en plus irréversible au fur et à mesure que la température augmente, et au fur et à mesure que l'on s'éloigne dans le temps du début de l' emprésurage, c'est-à-dire que l'irréversibilité croît avec la durée de l'action de la présure : quand le coagulum est encore récent et mou, il se redissout facilement dans un alcali dilué, c'est-à-dire qu'il se dépolymérise, et l'on peut même empêcher sa formation en ajoutant l'alcali au lait soit avant soit immédiatement après l' emprésurage. Au fur et à mesure que l'opération se prolonge, la dissolution, c'est-à-dire la dépolymérisation devient de plus en plus difficile à obtenir, également au fur et à mesure que le coagulum durcit par la chaleur. La caséine présure du commerce n'est plus soluble ; seuls les alcalis concentrés agissent sur elle, mais c'est alors une destruction chimique violente et non une dissolution.

Ce qui précède nous conduit donc à conclure que l'action de la présure sur la caséine a pour résultat une polymérisation de cette dernière, dans laquelle la présure joue le rôle de catalyseur, la chaux et l'acide phosphorique le rôle de plastifiants ; en l'absence de ces derniers en effet, il n'y a pas de polymérisation ; les caséinates et phosphocaséinates de soude ou d'ammoniaque ne coagulent pas par la présure.

Si pour le phosphocaséinate de chaux l'opération est possible à froid, alors que sans présure elle n'a lieu qu'à 130°-140°, c'est qu'il s'agit là d'une action diastasique ; nombreuses sont les actions diastasiques analogues que nous voyons se produire à froid dans la nature vivante, alors qu'elles ne sont possibles qu'à chaud *in vitro*.

Nous en avons un autre exemple, pour ainsi dire en sens inverse, dans la *préparation du glucose*. La matière première est l'amidon ou la fécule, colloïdes solides de formule chimique polymérisée : $(C^6H^{10}O^5)^n$; sous l'action d'une trace d'acide à chaud ou d'une trace de diastase (l'amylase) à froid, l'amidon se transforme d'abord, avec absorption d'eau, en une gelée demi-solide (l'empois), puis en une solution aqueuse de sucre entièrement dépolymérisée, et avec addition d'une molécule d'eau, suivant la formule :



Ici une diastase fait passer un corps de l'état de polymérisation avancée à l'état de dépolymérisation complète ; rien d'impossible à ce qu'une autre diastase fasse passer un autre corps de l'état de dépolymérisation à l'état de polymérisation plus ou moins complète.

Dans le cas de l'amidon, on part d'un corps insoluble colloïdal polymérisé en grains, pour aboutir à un corps soluble dépolymérisé, en passant par un gel volumineux très hydraté ; dans le cas de la caséine, on part d'une suspension colloïdale peu polymérisée, voisine d'une solution, pour aboutir à un corps insoluble colloïdal polymérisé en grains (la caséine présure du commerce), en passant par un gel volumineux et très hydraté (le caillé). Quoique inverses, il y a une évidente analogie entre les deux opérations.

Ainsi donc voici trois ordres de faits relatifs à la caséine, à la bakélite et à l'amidon qui présentent des caractères, sinon identiques, du moins très analogues, à tel point qu'on en peut aussi conclure que la modification subie par la caséine sous l'action de la présure est une polymérisation, polymérisation débutant par une gélification, c'est-à-dire par une hydratation physique du coagulum, et se terminant par une condensation chimique des molécules de caséine, avec perte de molécules d'eau.

En résumé, *l'action de la présure paraît être une action catalytique produisant une polymérisation physico-chimique de la caséine au moyen de deux plastifiants (la chaux et l'acide phosphorique)*. Pour simplifier nous continuerons à appeler paracaséine le produit résultant de la polymérisation, sans que ce produit soit dû à un dédoublement de la molécule de caséine.

B. CONSÉQUENCES ET JUSTIFICATIONS.

Nous allons montrer dans ce qui suit comment cette théorie de la polymérisation permet d'expliquer simplement les différences que l'on constate entre la caséine et la paracaséine, tant en laboratoire que dans la pratique. Nous prendrons pour cela la caséine et la

paracaséine pures préparées au laboratoire de M. Ch. PORCHER, et sur lesquelles nous avons déjà travaillé (1).

1. A l'aspect, les deux corps sont des poudres blanches insolubles dans l'eau. La caséine est en grains très fins, qui passent à peu près tous au tamis métallique n° 70 ; la paracaséine est en grains plus gros, qui nécessitent un broyage au moulin pour passer au même tamis en totalité. Comme toutes deux résultent de précipitations successives, à partir de solutions de phosphocaséinate, respectivement de phosphoparacaséinate de chaux, il faut donc que les précipitations aient donné lieu à des agrégats plus gros et se désagrégeant moins facilement dans le cas de la paracaséine que dans celui de la caséine. Ceci s'explique très facilement si l'on admet que la paracaséine est plus polymérisée que la caséine ; cette polymérisation suppose en effet une certaine agrégation chimique et physique des molécules, qui est grosso modo proportionnelle au degré de polymérisation, qui se perpétue dans la suite des opérations que l'on fait subir au produit, et que l'on retrouve en conséquence dans le produit final.

2. Les *alcalis* dilués dissolvent la caséine comme la paracaséine, et, comme nous l'avons vu, les quantités d'alcalis nécessaires sont les mêmes pour des quantités égales des deux corps. La seule différence constatée est que la paracaséine se dissout et se neutralise plus lentement que la caséine, surtout vers la fin de l'opération : l'addition d'une goutte de soude dans le cas de la paracaséine, donne alors une coloration rouge vif, qui disparaît plus lentement que dans le cas de la caséine ; mais le résultat final est le même, la coloration rose persistant indéfiniment avec la même quantité de soude dans les deux cas. Or la dissolution produit une dépolymérisation plus ou moins profonde ; les liaisons entre molécules, qui sont la conséquence même de la polymérisation, se trouvent plus ou moins rompues. La soude et la chaux étant des alcalis forts, rien de surprenant à ce que soient successivement annulées toutes les liaisons de polymérisation que la paracaséine possède par rapport à la caséine. L'opération est seulement plus lente qu'avec cette dernière.

3. L'action du *chlorure de calcium* sur les caséinates ou paracaséinates en solution ou en suspension colloïdale est très complexe, ainsi que nous l'avons vu précédemment (2) ; elle dépend de la concentration du caséinate ou du paracaséinate, de leur teneur en chaux, du pH de la liqueur, de la température et de la proportion de CaCl_2 ajoutée. Au sujet de cette dernière, nous avons vu qu'il fallait moins de CaCl_2 pour précipiter les paracaséinates que les

(1) Voir page 622.

(2) Voir page 623.

caséinates, et que même au voisinage de la neutralité ($pH = 7$), seul le paracaséinate précipite ; le caséinate ne précipite pas par addition de $CaCl^2$ seul ; il faut en plus lui ajouter de la présure, et c'est là une expérience fondamentale de PORCHER.

Cette plus grande facilité de précipitation paraît donc être une conséquence de l'action de la présure. Elle s'explique sans difficulté comme suit par la polymérisation. Les protéines, et en particulier la caséine et la paracaséine, sont en suspension dans les liquides sous forme de micelles colloïdales de grosseurs différentes ; les plus petites n'ont que quelques millimicrons de diamètre et sont à peine visibles à l'ultra-microscope ; mais d'autres ont des dizaines et des centaines de millimicrons de diamètre et sont visibles au microscope ordinaire ; plus elles sont grosses, plus la suspension est instable ; à partir d'une certaine grosseur, les micelles deviennent des particules visibles à l'œil nu et trop volumineuses pour rester en suspension ; elles tombent au fond du liquide ; le colloïde précipite.

La précipitation d'un colloïde peut donc provenir, soit d'une réaction chimique, comme c'est le cas quand on additionne un caséinate ou un paracaséinate d'un acide, qui, enlevant l'alcali, précipite la protéine insoluble, soit d'une augmentation purement physique de la grosseur des micelles. C'est pourquoi le paracaséinate de chaux, à l'état de micelles polymérisées plus grosses que celles du caséinate de chaux correspondant, précipite plus tôt par addition de $CaCl^2$ que le caséinate.

4. Ceci nous conduit à penser que *la coagulation est un phénomène continu* et non pas un simple phénomène chimique brusque, comme l'est une précipitation minérale ; quand on fait croître, dans l'expérience précédente, la proportion de $CaCl^2$ ajoutée, il y a vraisemblablement un accroissement de grosseur des agrégats de molécules polymérisées, jusqu'à ce que cette grosseur soit telle que ces agrégats deviennent visibles à l'œil nu, sous forme de précipité ou de coagulum. On comprend facilement que l'on arrive à ce résultat d'autant plus vite et avec d'autant moins de réactif que l'on est parti de molécules déjà plus polymérisées, comme c'est le cas pour la paracaséine comparée à la caséine.

Ceci nous donne en tout cas nettement la notion de la séparation par un phénomène continu et progressif, d'un colloïde de son liquide intermicellaire. Or c'est bien ainsi qu'agit la présure sur les suspensions de phosphocaséinate de chaux, dont on voit au microscope les particules grandir, au fur et à mesure que la coagulation avance, jusqu'à ce que le tout se prenne en une seule masse, qui semble être réticulée et avoir la texture d'un réseau élastique ou d'une éponge, remplissant tout le volume disponible et retenant tout le liquide dans ses mailles. C'est à ce moment seulement qu'on voit la coagu-

lation, et qu'on *dit* qu'elle se produit ; mais ce moment n'est pas en réalité un point singulier de la courbe exprimant le phénomène ; c'est seulement le point particulier où l'œil humain s'en aperçoit sans le secours d'aucun instrument.

Cette continuité du phénomène est d'ailleurs si vraie que ce dernier se poursuit même après la coagulation ; d'une part en effet la présure n'est pas détruite : on la retrouve dans les jus de fromages : et la persistance de son action se traduit par la rétraction du caillé, avec expulsion du sérum retenu par le coagulum, qui diminue sensiblement de volume total.

On est donc amené à conclure que l'action de la présure sur le phosphocaséinate de chaux du lait a lieu au point de vue physique de la façon suivante : les micelles de phosphocaséinate de chaux, qui ont normalement de 40 à 120 millimicrons de diamètre, grossissent en se soudant les unes aux autres. Cette soudure ne paraît pas avoir lieu en un bloc compact, mais sous forme d'un filet pourvu de mailles capillaires retenant le sérum intermicellaire ; c'est lorsque ce filet est complètement constitué et remplit tout le volume liquide que la coagulation visible à l'œil nu se produit. Mais l'action de la présure continuant, les soudures se multiplient et le coagulum se rétracte peu à peu en éliminant de plus en plus de sérum. On facilite cette élimination par le travail du caillé (découpage, brassage, chauffage), qui rompant le bloc du coagulum en morceaux, augmente les surfaces d'expulsion du sérum.

5. Lorsqu'on détermine par l'analyse la *teneur en eau des divers caillés* de fromagerie ou de caséinerie, on constate que cette teneur est très différente suivant les circonstances dans lesquelles ont été produits les caillés, en particulier suivant la température, la quantité de présure employée, l'acidité du lait, etc. Cette teneur varie en effet depuis 75 % pour certains fromages à pâte molle, jusqu'à moins de 50 % pour les caillés bien pressés obtenus par la présure ; dans le premier cas 100 gr. de caillé sec correspondent à 230 gr. d'eau ; dans le second ils correspondent seulement à 100 gr. Et cependant dans les deux cas le caillé est une masse solide ne laissant plus sortir d'eau par simple égouttage naturel et même par une pression modérée ; l'eau que contiennent ces caillés se trouve partie à l'état d'eau de juxtaposition, que l'on peut extraire sous une très forte pression [9], partie à l'état d'eau de constitution, de combinaison.

Or la polymérisation s'accompagne, d'une part, du grossissement des particules, d'autre part, de l'élimination chimique d'un certain nombre de molécules d'eau chaque fois que deux molécules du corps se combinent entre elles. De plus, la polymérisation est fonction de la température, et dans le cas de la caséine, de la dose

de présure employée. Elle doit donc être de plus en plus poussée et le caillé obtenu doit contenir de moins en moins d'eau de juxtaposition et de constitution, au fur et à mesure qu'on opère avec des doses de présure de plus en plus grandes et en portant la température à des chiffres de plus en plus élevés. C'est en effet ce que l'on constate.

Les caillés de fromages à pâte molle sont obtenus avec moins de 15 cm³ de présure (au 1/10.000) par hectolitre de lait, à une température variant de 20° à 30°, même inférieure à ces chiffres pendant l'égouttage. Ils contiennent de 60 à 75 % d'eau.

Les caillés de fromages à pâte dure sont obtenus avec plus de 15 cm³ de présure par hectolitre de lait, à une température comprise entre 30° et 35° ; ils sont ensuite chauffés au-dessus de ces chiffres, certains jusqu'à plus de 55°. Ils contiennent de 50 à 60 % d'eau.

Les caillés de caséine présure sont obtenus avec 15 cm³ de présure par hectolitre, à une température de 37° ; ils sont ensuite portés à 65°. Ils contiennent de 40 à 50 % d'eau seulement.

La polymérisation explique donc les différences de teneurs en eau des divers caillés : plus la température a été élevée, plus les molécules sont agrégées en particules volumineuses et sèches ; plus ces agrégats sont gros, moins ils contiennent d'eau de constitution, et moins ils retiennent d'eau de juxtaposition. Physiquement et chimiquement, la polymérisation conduit à un assèchement de la masse.

6. La polymérisation peut aussi expliquer que les *poids moléculaires* de la caséine trouvés par les divers auteurs soient si discordants et varient de 8.000 à 200.000, les variations provenant de différences dans le degré de polymérisation de la caséine étudiée.

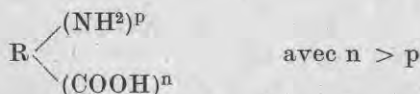
C. SCHÉMAS DE POLYMÉRISATION.

L'idée de la polymérisation paraît donc déjà très féconde ; mais il reste à voir comment on peut en donner une représentation chimique, et si l'on peut justifier cette représentation de telle façon qu'elle soit au moins vraisemblable.

Les études sur les colloïdes minéraux [10] ont amené à considérer que tous les corps polymérisables renferment dans leur formule de constitution des liaisons doubles, susceptibles de s'ouvrir et de se transformer en liaisons simples. C'est ainsi que le soufre ordinaire est représenté par la formule $S = S$, et le soufre colloïdal par la formule $-S - S - S - S -$; les deux diffèrent en ce que la première répond à une formule S^2 entièrement saturée et inerte, tandis que la molécule S^n de la seconde a la forme d'une chaîne présentant à chacune de ses extrémités une valence libre.

Tout corps polymérisable présente donc dans sa formule de constitution une ou plusieurs chaînes de molécules avec une valence simple ou complexe à une extrémité au moins ; inversement tout corps qui présentera de semblables chaînes ou valences sera polymérisable. Or c'est précisément le cas de la caséine, dont la formule chimique comprend un certain nombre de groupes *carboxyles* COOH — et de groupes *amines* NH^2 —, les premiers, au nombre de 114, prédominant de beaucoup sur les seconds, au nombre de 83 seulement, ce qui explique le caractère acide de la caséine pure, fonction de l'excédent des 31 carboxyles.

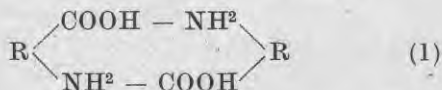
En désignant par R un radical indéterminé, mais de grosse masse, puisque le poids moléculaire de la caséine est au moins de 12.000, on peut donc représenter cette dernière par un schéma analogue au suivant :



Il semble y avoir là $n + p$ valences libres, mais il n'en est rien, car un certain nombre de valences COOH peuvent à l'intérieur même de la molécule saturer un nombre égal de valences NH^2 , pour donner une liaison d'*acide aminé* $\text{COOH} - \text{NH}^2$.

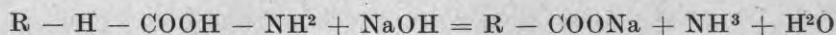
C'est bien ce qui a lieu et l'on retrouve ces acides aminés (leucine, proline, valine, lysine, tyrosine, etc.) lors de la décomposition de la molécule de caséine. D'autres liaisons analogues entre groupes carboxyles et groupes alcooliques ou phénoliques se produisant également à l'intérieur de la molécule, l'acidité totale apparente de la caséine se réduit à la présence de 16 carboxyles au maximum.

Si maintenant nous considérons plusieurs molécules, il peut aussi se produire une liaison entre un certain nombre de groupes COOH d'une molécule et un nombre égal de groupes NH^2 d'une autre molécule d'après un schéma analogue au suivant :



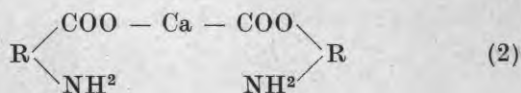
Il nous semble probable que ce soit ce genre de polymérisation qui existe déjà dans la caséine pure ; les liaisons ainsi obtenues doivent présenter des solidités variables, mais toujours assez faibles, étant donné la faiblesse des valences en jeu ; celles-ci sont donc bien saturées, mais leur liaison est facilement rompue par des réactifs un peu forts, telles les bases alcalines. C'est en particulier ainsi que lorsqu'on ajoute de la soude ou de la chaux à la caséine, on sature d'abord les 16 carboxyles libres, ce qui conduit à la production d'un

caséinate de *pH* voisin de 10 ; en continuant l'addition de soude, on rompt les liaisons telles que celles du schéma (1), avec formation d'ammoniaque et élimination d'eau, suivant la formule :



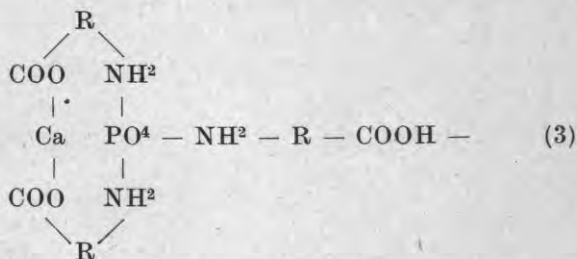
De ce fait la caséine pure se comporte comme un corps à peu près entièrement dépolymérisé et peut être considérée comme telle en présence de réactifs forts.

Si au lieu de soude nous employons la chaux, nous obtenons le même résultat, avec formation, s'il n'y a pas d'excès de chaux, d'un caséinate de chaux, suivant un schéma analogue au suivant :

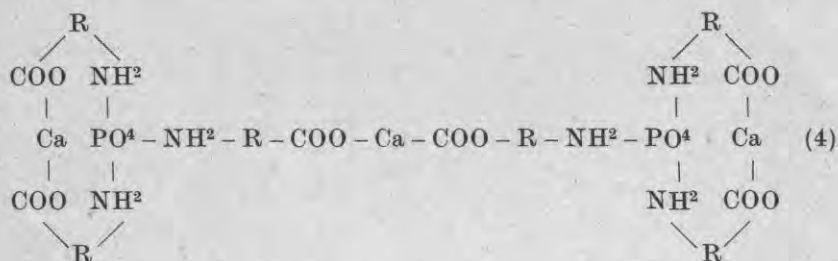


Il y a condensation de deux molécules en une seule, et l'opération peut théoriquement avoir lieu pour tous les carboxyles de la molécule ; mais la polymérisation ne semble pas pouvoir aller plus loin avec la chaux seule, puisque les valences restant à saturer dans la double molécule sont elles-mêmes des valences alcalines. Cependant cette première polymérisation par jonction de deux molécules de caséine est déjà du ressort de l'action de la présure et suffit à expliquer l'expérience de PORCHER sur le traitement des caséinates de chaux par la présure.

Si maintenant nous ajoutons de l'acide phosphorique au caséinate, cet acide pourra servir de lien entre les groupes NH^2 , selon un schéma analogue au suivant :



Il y a condensation de trois molécules en une seule, mais il reste une valence acide libre dans l'une des molécules, si bien que l'on peut, en prenant un second groupement semblable de trois molécules, obtenir une nouvelle liaison, selon un schéma analogue au suivant :



Il y a condensation de six molécules en une seule, sans qu'il reste aucune valence libre. A ces six molécules de caséine correspondent 3 atomes de calcium et 2 atomes de phosphore, c'est-à-dire que le rapport en poids du calcium au phosphore est de 1,87, soit très sensiblement le même que celui du phosphocaséinate de chaux, soit précipité par saturation saline, soit coagulé par la présure, en partant du lait.

Il semble donc que la présure n'ait fait que déplacer les liaisons entre le radical caséine d'une part, la chaux et l'acide phosphorique d'autre part, et que ce déplacement se soit effectué précisément dans le sens de la polymérisation de la molécule de caséine, suivant le schéma (4). Ce schéma, qui correspond justement à un rapport des teneurs en calcium et phosphore égal à celui de la caséine présure, donne donc une assez bonne représentation des faits.

Dans la réalité, les choses ne sont évidemment pas aussi simples, notamment parce que la molécule de caséine contient bien plus de groupes COOH que de groupes NH^2 : 114 des premiers contre 83 des seconds, soit à peu près 3 COOH pour 2 NH^2 ; par suite la caséine présure a encore une réaction légèrement acide à la phénolphthaléine, et même sous forme de caillebotte pressée, elle est encore susceptible de se combiner avec une certaine quantité d'alcali, comme c'est le cas dans la fabrication de la caséine dite « alimentaire » par malaxage de caillebotte présure avec 1 à 3 % de carbonate ou bicarbonate de soude.

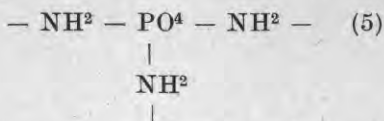
On obtient en effet dans ces cas un corps qui peut absorber à chaud jusqu'à 5 fois son poids d'eau, en donnant par refroidissement, non une colle comme dans le cas de la caséine pure, mais une gelée analogue à la gélatine, et employée comme telle en charcuterie. Il semble du reste se produire là, surtout si la dose d'alcali est élevée, un commencement de dépolymérisation par gélification avec absorption d'eau, comme dans le cas de la gélatine ou de l'amidon.

Ce qui précède permet en tout cas de concevoir que si l'on opère suivant les schémas ci-dessus avec tous les groupes COOH et NH^2 accompagnant chaque radical R, on puisse obtenir de proche en proche la constitution d'agréats de plus en plus volumineux. Ces

agréats sont constitués par la dissémination dans le volume considéré de gros radicaux R, réunis par des chaînettes telles que celles du schéma (4), les unes de la forme



les autres de la forme



Ces liaisons sont évidemment de masses très faibles en comparaison des radicaux R ; elles sont par rapport à ces derniers ténues comme des fils. L'ensemble prend donc l'aspect d'un réseau ou d'un filet à trois dimensions, dont les radicaux R sont les nœuds et les liaisons (5) les fils ; les mailles restant entre celles-ci sont évidemment microscopiques et capillaires, si bien que le tout fonctionne comme une éponge retenant *physiquement* le sérum dans ses cavités intérieures.

Toutefois, si l'on maintient le coagulum au repos, il se rétracte d'une manière notable, quoique pas indéfinie. Ceci prouve que la condensation continue après le moment où la coagulation *visible* est apparue, et par conséquent qu'elle n'est à ce moment-là pas encore complète.

Remarquons que dans le lait les radicaux R paraissent déjà unis à la chaux et à l'acide phosphorique, mais sans condensation physique notable, puisque les micelles, isolées les unes des autres, n'ont que quelques millimicrons de diamètre. Cette liaison consiste donc, ou bien en une simple adsorption physique de CaO et de P²O⁵ à la surface extérieure des micelles, ou bien en une véritable combinaison chimique avec les groupes COOH et NH² ; mais dans ce dernier cas la combinaison est peu solide ; elle est détruite très facilement par les acides et les alcalis dilués.

Dans le cas de la caséine polymérisée par la présure, la combinaison est au contraire beaucoup plus solide, la caséine présure étant par exemple insoluble dans les alcalis et aussi bien plus difficilement attaquable par les acides en vue de la dissolution de la chaux et de l'acide phosphorique.

La présure a donc pour effet de transformer l'état précaire du phosphocaséinate de chaux du lait en un état stable par transposition des valences ; il se produit probablement d'abord l'ouverture interne des liaisons de la molécule, et le déroulement des chaînettes terminées par COOH et NH², puis la recombinaison de ces deux radicaux par l'intermédiaire de CaO et de P²O⁵ de molécule à molécule.

Le fait que les deux opérations demandent un certain temps, qui est représenté par la durée de la coagulation, vient sans doute de ce que les valences correspondantes aux groupes carboxyles ou amines ne sont pas toutes aussi fortes, si bien que l'ouverture des liaisons a lieu successivement suivant leurs forces respectives, suivie immédiatement par leur restauration suivant le schéma (4). Ce n'est que lorsqu'il y a un nombre suffisant de liaisons établies de molécule à molécule que le coagulum devient visible à l'œil nu.

D. CONCLUSIONS.

Cette théorie de la polymérisation satisfait parfaitement aux quatre conditions que nous avons énoncées précédemment.

Elle présente la coagulation comme une condensation physico-chimique des molécules de caséine, respectivement de phosphocaséinate de chaux.

Elle explique l'entraînement du phosphate de chaux, puisque la chaux et l'acide phosphorique sont à la base des schémas de polymérisation.

Elle justifie que l'opération ne soit pas instantanée comme dans le cas de la précipitation de la caséine par les acides, mais progressive.

Elle conserve et même accentue le caractère colloïdal de la caséine démontré par la plasticité du produit obtenu.

Ainsi donc cette théorie permet d'expliquer d'une manière simple et très approchée, sans faire intervenir aucun corps hypothétique nouveau, tout le comportement des suspensions de caséinates et phosphocaséinates de chaux, en particulier dans le phénomène de la coagulation par la présure.

Elle concorde aussi avec le peu que nous savons du pouvoir catalytique des diastases; le type de réaction dont nous avons parlé est essentiellement le fait d'une action catalytique, car cette réaction consiste uniquement en une transposition de liaisons de saturation et en leur consolidation, ce qui ne saurait s'expliquer par des idées de pure chimie, une combinaison chimique entre deux ou plusieurs corps ne pouvant se transformer en une autre combinaison chimique de même composition que s'il s'agit d'isomères ou de polymères.

Pourquoi d'ailleurs la présure opère-t-elle cette transposition des valences? Pourquoi transforme-t-elle les caséinates et phosphocaséinates de chaux existant dans le lait sous une forme non ou peu polymérisée en une forme très polymérisée? Nous l'ignorons. Mais pourquoi et comment l'amylase transforme-t-elle l'amidon en sucre par dépolymérisation? Pourquoi et comment la zymase de BUCHNER transforme-t-elle le sucre en alcool?

Nous touchons là aux propriétés de la matière vivante, qui

peuvent être transférées temporairement aux liquides et que nous n'avons pu jusqu'alors ni expliquer ni comprendre. La coagulation du lait par la présure est un phénomène biologique, nous dirons même un phénomène vital, que nous produisons *in vitro*.

BIBLIOGRAPHIE.

- [1] O. HAMMARSTEN :
- a) Om mjölkstningen och de dervid verksamma fermenterna i magslemhinnan. *Upsala läkareföreningens förhandlingar*, 1872-73.
 - b) Om det kemiska förloppet vid caseinets coagulation med löpe. *Upsala läkareförenings förhandlingar*, 1873-74.
 - c) Om lösligt och olösligt casein i mjölken. *Upsala läkareförenings förhandlingar*, 1875-76.
 - d) Zur Kenntniss des Kaseins und der Wirkung des Labfermentes. Upsala, 1877.
- [2] Ch. PORCHER. Le lait au point de vue colloïdal. Lyon, 1929.
- [3] E. DUCLAUX. Le lait. Etudes chimiques et microbiologiques. Paris, 1889.
- [4] W. VAN DAM. Sur les enzymes de la présure, et Sur la coagulation du lait par la présure. *Revue générale du lait*, 1910.
- [5] L. L. VAN SLYKE. Composition and properties of some Casein and Paracasein compounds. *New York State Agricultural Experiment Station Technical Bulletin*, n° 26, 1912.
- [6] O. HAMMARSTEN. Lehrbuch der physiologischen Chemie. Wiesbaden : 5^e édition, 1904 ; 11^e édition, 1926.
- [7] VANDELLVELDE. Sur la classification des protéines du lait. *Revue générale du lait*, 1910.
- [8] L. LINDET et P. AMMANN. Divers travaux sur la caséine. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences* : 1906, 1912, 1913.
- [9] Chr. BARTHEL, E. SANDBERG et E. HAGLUND. Recherches de la présure dans les fromages. *Le Lait*, 1928.
- [10] P. BARY. Où en est la chimie colloïdale ? Paris, 1927.

LE DOSAGE DE LA MATIÈRE GRASSE DANS LES CASÉINES INDUSTRIELLES

par

JEAN PIEN

et

MARC BERGIER

Ingénieur chimiste (I. C. R.),

Docteur ès sciences,

Directeur des Laboratoires des

« Fermiers Réunis ».

Ingénieur agricole (I. A. N.),

du Laboratoire des caséines des

« Fermiers Réunis »

1^{er} ARTICLE

La teneur en matière grasse des caséines est l'un des facteurs les plus importants de l'appréciation de la qualité de ces substances.

Dans les applications industrielles on relève, au moins, deux