- [8] A. GRATIA. *Journ. Exp. Med.*, 1922, t. XXXV, p. 287.
- [9] M. GRIMES. *Le Lait*, 1929, t. IX, p. 905.
- [10] W. HAUSAM (thèse), Kiel 1930.
- [11] Fr. D'HÉRELLE. *Le bactériophage et son comportement*, Paris 1926.
- [12] Sh. INO. *Ztbl. f. Bakt. Abt. 1*, 1929, t. CXII, p. 243.
- [13] S. ORLA-JENSEN et J. JACOBSEN. *Ztbl. f. Bakt. Abt. 2*, 1930, t. LXXX, p. 321.
- [14] H. KUFFERATH. *Ann. Inst. Past.*, 1919, t. XXXIII, p. 462.
- [15] I. LIPSKA. *Le Lait*, 1932, t. XII, p. 88.
- [16] H. LOTZE. *Ztbl. f. Bakt. Abt. 1*, 1931, t. CXXI, p. 161.
- [17] MINISTRY OF AGRIC. and Fisch. *Miscel. Public.*, n° 43, 1926.
- [18] C. W. MÖLLER. *Milchwirtsch. Forsch.*, 1929, t. VIII, p. 109.
- [19] C. F. VAN OYEN. *Le Lait*, 1929, t. IX, p. 189.
- [20] C. SKAR. *Congrès Int. de Laiterie*, n° 71, 1931.
- [21] R. VIERTBAUER. *Milchwirtsch. Forsch.*, 1928, t. VII ; H. 5/6.

RECHERCHES SUR LA CASÉINE

par Mlle J. BRIGANDO

Docteur ès Sciences de l'Université de Lyon,
Chef de Travaux à l'Institut des Recherches Agronomiques.

(Suite.)

Nous allons maintenant parler des essais qui ont été réalisés en employant, comme acide précipitant, non plus l'acide chlorhydrique, mais l'acide sulfurique et l'acide acétique.

EMPLOI DE L'ACIDE SULFURIQUE COMME ACIDE PRÉCIPITANT.

Essai n° 39. Précipitation à froid. Bonne agitation. Apport lent d'acide. Caséine cuite dans son sérum et lavée. — L'acide sulfurique est à 2,50 %.

On opère sur 5 litres de lait dont le degré D. est de 18 ; $pH = 6,67$. L'acide est ajouté lentement dans le lait agité mécaniquement pour obtenir le $pH = 4,6$. La caséine est cuite dans son sérum à la température de 55° qui est maintenue pendant 10 minutes. On continue l'agitation pendant la cuisson. On décante et on lave deux fois avec l'eau de la conduite, par décantation. La caséine est en grains fins. Elle est égouttée sur linge, pressée, séchée à l'étuve à 40° . On obtient un produit granulé, blanc, de très bon aspect.

Taux des cendres : 1,42 %.

Rendement : 28 gr. 1 au litre.

Essai n° 40. — On opère dans les mêmes conditions que précédemment, mais l'acide employé a une concentration double : 5 %. Le lait a 25° D. et, pour arriver au $pH = 4,7$, nous utilisons 236 cm³ d'acide pour 5 litres de lait, soit 2 gr. 36 par litre.

Comme précédemment, la caséine, après cuisson, est fine et le sérum se décante.

bien. On lave deux fois avec l'eau de la conduite. Après pressage et séchage on a un produit granulé et blanc.

Taux des cendres : 0,84 %.

Acidité : 0,19.

Rendement : 26 gr. 7.

Essai n° 41. Précipitation à froid. Bonne agitation. Apport lent d'acide. Caséine chauffée dans la deuxième eau de lavage.

— L'acide employé a une concentration de 5 %.

On opère sur 5 litres de lait d'acidité 25° D. On arrête l'addition d'acide au pH 4,7. On décante le sérum. On lave deux fois avec l'eau de la conduite ; la caséine est cuite dans la deuxième eau de lavage à 50°, pendant 20 minutes. Durant le chauffage, la caséine qui se présentait en petits grains se rassemble en une masse compacte qui s'étire à la main. Après pressage, le gâteau de caséine se brise assez facilement. Après séchage à 40° on a un produit granulé blanc.

Taux des cendres : 1,31 %.

Acidité : 0,19.

Rendement : 25 gr. 6 au litre.

TABLEAU XXV.

EMPLOI DE L'ACIDE SULFURIQUE COMME AGENT PRÉCIPITANT.

Essais	Caractéristiques	Acide sulfurique en gr. par litre de lait	pH du sérum	Cendres pour 100 gr. de caséine anhydre	Acidité en acide lactique pour 100 gr. de caséine	Rendement par litre de lait
39	Caséine cuite dans son sérum. Lavée avec l'eau de la conduite		4,60	1,42		28,10
40	Mêmes conditions. Acide de concentration double	2,36	4,7	0,84	0,19	26,7
41	Caséine chauffée dans la deuxième eau de lavage		4,7	1,31	0,19	25,6

CONCLUSIONS. — Les caséines préparées avec l'acide sulfurique ont un très bel aspect. Le chiffre des cendres n'est pas plus élevé, toutes conditions égales d'ailleurs, qu'avec l'acide chlorhydrique comme agent précipitant. A priori, on aurait pu penser, en raison de

la faible solubilité du sulfate de calcium, à une minéralisation plus élevée.

La caséine cuite dans la deuxième eau de lavage est, comme dans le cas de l'acide chlorhydrique, plus compacte que celle qui est cuite dans le sérum.

L'acide sulfurique peut donc être employé au même titre que l'acide chlorhydrique comme agent précipitant, les résultats obtenus étant en tous points comparables.

EMPLOI DE L'ACIDE ACÉTIQUE COMME ACIDE PRÉCIPITANT.

Essai n° 42. Précipitation à froid. Bonne agitation. Apport lent d'acide. Caséine cuite dans son sérum, non lavée. — L'acide acétique employé est à la concentration de 5 %.

On opère sur 5 litres de lait d'acidité 26° D. L'acide est ajouté lentement. Le pH reste longtemps stationnaire à 4,85, puis on continue l'addition d'acide pour arriver au pH = 4,6 où l'on arrête l'opération. Il a fallu 790 cm³ d'acide, soit 7 gr. 90 d'acide par litre de lait. La caséine est chauffée dans son sérum à 53°, pendant 10 minutes. Elle se présente en grains fins et on la laisse s'égoutter sur linge toute la nuit. Ensuite, elle est pressée et séchée à 40°. On a un produit granulé à grains fins.

Taux des cendres : 2,45 %.

Acidité : 1,87.

Rendement : 33 gr. 6 au litre.

Essai n° 43. Précipitation à froid. Bonne agitation. Apport lent d'acide. Caséine cuite dans la deuxième eau de lavage. — L'acide a une concentration de 5 %. Le lait a 22° D. d'acidité. Il faut 585 cm³ pour arriver au pH 4,85, soit 5 gr. 85 par litre de lait.

La caséine est lavée deux fois par décantation à l'eau de la conduite et, dans la deuxième eau, elle est portée à 50°. La durée de la cuisson est de 10 minutes. Elle se ramasse en une masse compacte, élastique. On la presse aisément et le gâteau se défait bien à la main. Elle est portée à 70° dans une étuve où l'on établit un courant d'air. Le produit résultant est à grains compacts, de couleur jaune, ce qui tient à la température élevée à laquelle son séchage a été effectué.

Taux des cendres : 1,42 %.

Acidité : 0,19.

Rendement : 29 gr. 7.

Essai n° 44. Précipitation à froid. Bonne agitation. Apport lent d'acide jusqu'au pH = 4. Caséine cuite dans son sérum et lavée. — On fait cet essai pour le comparer avec l'essai n° 20 où l'acide chlorhydrique a été utilisé comme agent précipitant.

Le lait a une acidité titrable élevée : 28° D. ; pH = 6,43. L'acide acétique est à 5 %.

On opère sur 5 litres de lait. L'addition de l'acide est lente et, au bout d'une heure, le sérum a un $pH = 4,8$. On abandonne la masse pendant 2 heures, puis on continue l'addition d'acide très lentement encore. Le pH varie avec une extrême lenteur. Il faut 4.450 cm^3 pour arriver au $pH = 4$, soit 44 gr. 50 d'acide par litre de lait.

La caséine est en grains très fins, se sépare fort bien. On porte le tout à 50° pendant 10 minutes. On lave deux fois par décantation avec l'eau de la conduite. On laisse la caséine s'égoutter sur toile toute la nuit. Le lendemain, elle est pressée et séchée à 40° . On a un produit granulé, légèrement teinté, mais les grains se brisent facilement à la main.

Taux des cendres : 0,56.

Acidité : 2,04 ‰.

Rendement : 26 gr. 4 au litre.

TABLEAU XXVI.

EMPLOI DE L'ACIDE ACÉTIQUE COMME AGENT PRÉCIPITANT.

Essais	Caractéristiques	Acide acétique en gr. par litre de lait	pH du sérum	Cendres pour 100 gr. de caséine anhydre	Acidité en acide lactique pour 100 gr. de caséine	Rendement par litre de lait
42.....	Caséine cuite dans le sérum et non lavée	7,90	4,60	2,45	1,87	33,6
43.....	Caséine cuite dans la deuxième eau de lavage	5,85	4,85	1,42	0,19	29,7
44.....	Caséine cuite dans son sérum et lavée	44,50	4	0,56	2,04	26,4

CONCLUSIONS. — Nous voyons que la caséine cuite dans son sérum et *non lavée* a un chiffre de cendres un peu plus élevé que dans le cas où la précipitation a lieu par l'acide chlorhydrique. Il faut, en équivalent-grammes, le double environ d'acide acétique. Dans l'industrie, cela correspondrait à une dépense élevée en acide, ce qui augmenterait le prix de revient de la caséine. L'acidité du produit est également plus grande que lorsque la précipitation a lieu par HCl .

Quand la caséine est cuite dans la deuxième eau de lavage, les chiffres de cendres et d'acidité sont comparables, que la précipitation acide ait lieu par l'acide acétique ou par l'acide chlorhydrique.

Néanmoins, les équivalents-grammes d'acide par litre restent à peu près le double, dans le cas de la précipitation acétique.

Pour la précipitation au $pH = 4$, l'acide acétique ne peut pas être envisagé et il doit y avoir une adsorption très marquée de l'acide par la caséine, avec une telle acidité.

CASÉINE D'ACIDIFICATION NATURELLE.

Dans les expériences relatées ci-dessus, nous avons montré que l'obtention des premiers flocons, lors de la précipitation acide, se fait à des pH différents selon la température du milieu. Cosmovici a montré, qu'il s'agisse de coagulation spontanée ou de précipitation provoquée, que la caséine commence à précipiter toujours au même pH , qui oscille entre 5,30 et 5,39. Nous avons voulu noter une fois de plus, en suivant avec attention le processus de l'acidification naturelle, à quel pH on avait un commencement de précipitation

Du lait frais est abandonné, le soir, à la température du laboratoire. Le lendemain matin, il n'est pas encore coagulé. Le $pH = 5,85$. A midi, $pH = 5,73$. A 3 heures, le liquide paraît toujours homogène. Cependant, une pipette, après vidange du lait aspiré, présente sur sa paroi une faible granulation. Le $pH = 5,38$. A 5 heures, le liquide nous paraît toujours homogène, mais l'apparence floconneuse constatée sur la paroi de la pipette qui a servi à en prélever une partie, est plus marquée. Le lait est transvasé. Les parois et le fond de la capsule sont recouverts de petites masses caillées. Le pH du liquide est, à ce moment, de 5,25. Nous pouvons donc dire que nous avons un commencement de coagulation avec un pH voisin de 5,38. Ce phénomène demande à être observé avec soin et si l'on substituait l'examen microscopique à l'observation à l'œil nu, sans doute saisiserait-on un commencement de flocculation avec un pH plus grand que 5,38. Le lendemain matin, on a un bloc caillé et le pH du sérum est de 4,7. On prend le pH du sérum à des intervalles de 24 heures et l'on a les chiffres 4,70 et 4,52.

Essai n° 45. Caséine lactique d'acidification naturelle, cuite dans son sérum, non lavée.— Du lait écrémé laissé à la température du laboratoire est coagulé 24 heures après. Le sérum a un pH de 4,7. On porte une partie du caillé au bain-marie pour cuire le grain à 65°. Après la cuisson, le pH du sérum est de 4,7. Le caillé est pressé et séché entre du papier-filtre.

Taux des cendres sur le produit anhydre : 1,62 %.

Essai n° 46. Caséine lactique d'acidification naturelle, cuite dans son sérum et lavée deux fois.

5 litres de lait sont chauffés au bain-marie à 35°. Le lait est ensuite abandonné à la température du laboratoire. Deux jours après, le caillé est bien formé. Le sérum a 78° D., $pH = 4,7$. Le caillé est brisé et cuit au bain-marie à 50°. On retire la capsule immédiatement après avoir atteint cette température. On décante le sérum, on lave deux fois avec l'eau de la conduite. La caséine se présente en petits grains. Elle est pressée et séchée à 40°.

Taux des cendres : 0,89 %.

Influence du lavage sur le taux en cendres de la caséine lactique. — On laisse un lait s'acidifier pendant 24 heures, temps au bout duquel il est coagulé. Le caillé est rompu. On en fait deux parts ; l'une est égouttée et pressée sans être ni cuite ni lavée ; l'autre est cuite dans le sérum qui est porté graduellement à 60°. Après cuisson, le caillé est débarrassé de son sérum. Une partie est prélevée pour être égouttée, pressée, sans avoir été lavée ; le reste est lavé, d'abord deux fois avec l'eau de la conduite — eau un peu calcaire — et on prélève un échantillon après ces deux lavages. Enfin, le reste est soumis à un troisième lavage avec de l'eau distillée.

Voici le tableau des taux d'humidité et de cendres de ces quatre échantillons qui ont été desséchés à l'étuvé, aux environs de 40° :

TABLEAU XXVII.

INFLUENCE DU LAVAGE SUR LE TAUX DES CENDRES DE LA CASÉINE LACTIQUE

Essais	Humidité %	Cendres % sur le produit anhydre
47 (caillé non cuit, non lavé)	8,57	3,60
48 (caillé cuit, non lavé)	6,74	2,50
49 (caillé cuit, 2 lavages à l'eau de la conduite)	6,83	1,60
50 (caillé cuit, 3 lavages à l'eau de la conduite + un lavage à l'eau distillée)	4,96	1,60

Dans un autre essai, nous avons préparé de la caséine-lactique d'acidification spontanée que nous avons fait cuire après rompage dans son sérum, dans les mêmes conditions que ci-dessus.

Le taux des cendres, avec le produit non lavé, est 2,34 %. Avec le produit lavé, 0,61.

* * *

CASÉINE-PRÉSURE.

Dans un des précédents chapitres, nous avons montré et défini ce qu'il fallait entendre par caséine-présure. Celle-ci est faite de l'association de deux sels : paracaséinate calcaire + phosphates calcaires insolubles.

Le processus de l'emprésurage assure les meilleurs rendements lorsqu'on s'adresse au lait frais, de réaction normale, c'est-à-dire à celui dont le pH est voisin de 6,6. Si on s'adresse à des laits dont l'acidité acquise, sous l'action du processus fermentaire lactique, est déjà notable, les rendements sont moindres et le produit est peu « marchand », sa qualité n'étant pas celle qu'il a lorsqu'on travaille sur du lait frais.

LA MINÉRALISATION DES CASÉINES-PRÉSURE.

La minéralisation de la caséine-présure est toujours élevée ; les développements dans lesquels nous sommes entrés pour séparer nettement la caséine-acide de la caséine-présure nous l'ont montré.

Quand on parle du taux de la minéralisation des caséines, qu'il s'agisse d'ailleurs de la caséine-acide ou de la caséine-présure, il est sous-entendu que c'est, en réalité, du taux des cendres qu'il est question. Ici, comme toujours en chimie biologique, les cendres ne sont nullement le reflet exact de ce que sont les substances minérales dans la matière analysée avant son incinération.

Tandis qu'on cherche à obtenir une caséine-acide qui soit aussi déminéralisée que possible, se rapprochant de la caséine pure, — et nous en avons obtenu avec 0,30 % de cendres, ce qui est un fort beau résultat pour des recherches semi-industrielles, — il en va tout différemment avec la caséine-présure. Nous devons la souhaiter aussi chargée en cendres que possible. Nous voulons dire par là que, lorsqu'elle est obtenue en partant d'un lait frais, le taux des cendres de la caséine-présure ne doit pas descendre au-dessous d'un certain quantum qui sera défini plus loin. Étant donné que les laits de mélange sont l'image d'un lait moyen dont la composition varie, en somme, fort peu, on doit tirer cette conclusion : *la caséine-présure bien préparée doit avoir un taux de cendres à peu près constant.*

Nous chercherons à expliquer les différences que l'on constate à l'analyse, différences qui sont assez grandes, ainsi que nous pouvons le noter en nous reportant aux tableaux donnés dans la première partie.

Pour fixer les idées, il est indispensable de s'adresser plutôt au complexe synthétiquement préparé qu'au lait, et nous reporterons ensuite sur la sécrétion naturelle les résultats que nous aurons obtenus avec le complexe de synthèse.

Avant de calculer le taux minimum de minéralisation de la caséine-présure, il est nécessaire de préciser le chiffre du phosphore de la caséine qui nous servira pour les calculs et de rappeler quelques considérations générales. La détermination du taux du phosphore de la caséine a été faite par de nombreux auteurs et l'on trouve dans la thèse de Ch. PORCHER, à ce sujet, une documentation bibliographique complète. Les auteurs sont d'accord pour donner à la caséine une richesse moyenne, en phosphore, d'au moins 0,85 %. Dans un travail tout récent, CHERBULIEZ et M^{lle} SCHNEIDER (37) donnent, pour le taux en phosphore de la caséine, le chiffre de 0,84 %.

(37) E. CHERBULIEZ et Margarethe Lily SCHNEIDER. Recherches sur la caséine. — La caséine n'est pas un corps homogène. — Etude de son fractionnement par le chlorure d'ammonium. *Le Lait*, 1933, **13**, 264.

Le phosphore de la caséine existe sous la forme d'acide orthophosphorique dont un oxhydryle est pris dans l'union avec l'édifice protéique, sous forme d'ester. Des deux autres OH phosphoriques qui restent, l'un d'eux, le second des trois, dont la constante de dissociation est encore assez grande, est susceptible de s'unir à la chaux. Quant au troisième, il reste libre et ne s'unit aux bases qu'en présence d'un excès de celles-ci. A ce moment, l'alcalinité du produit est telle qu'il en résulte une attaque de la protéine, entraînant la libération de l'acide phosphorique.

Toute la chaux du caséinate n'appartient pas à l'acide phosphorique ; la plus grande partie salifie les carboxyles libres de la protéine.

Quand on prépare le complexe : caséinate de calcium + phosphates de calcium, Ch. PORCHER a longtemps pensé que l'on obtenait un mélange des trois phosphates : le mono-, le bi- et le tri-, en proportions inégales, formé principalement d'un mélange équimoléculaire de phosphate bi- et de phosphate tri-. Mais l'examen poussé plus avant des conditions de la salification de l'acide phosphorique par la chaux, tel qu'il résulte de l'établissement de la courbe de neutralisation, montre que, pour le pH du lait, il ne doit pas exister de phosphate tri-, mais un mélange de bi- et de mono-, celui-là insoluble, celui-ci soluble. C'est le phosphate bi- qui est entraîné par le paracaséinate calcique, lors de l'emprésurage.

Par la calcination du complexe, le phosphore appartenant à la caséine se libère, bien entendu, de toute attache protéique et apparaît dans les cendres sous forme de phosphate calcique, ou, plus précisément encore, de pyrophosphate calcique. De la même façon, le phosphate bicalcique, uni au caséinate dans le complexe, donnera également du pyrophosphate. Enfin, n'oublions pas qu'il y a du soufre dans la caséine. Si la plus grande partie de celui-ci disparaît dans la calcination, sous forme de produits volatils, le résidu passe à l'état de sulfate et l'examen des cendres de la calcination du complexe nous a toujours donné, en effet, des traces de ce sel.

Ceci dit, il est possible, maintenant, de calculer avec une approximation satisfaisante le poids des cendres obtenues par la calcination du complexe.

Voici les expériences que nous avons faites et nous en rapportons les résultats au litre de la solution du complexe :

Préparation du complexe. — Caséine : 30 gr. avec 4,4 % d'humidité, soit, en caséine anhydre, 28 gr. 700. Ce taux a été contrôlé par un dosage d'azote et on a pris le facteur de multiplication 6,39 pour passer de l'azote à la caséine.

Chaux : 1 gr. 100.

Acide orthophosphorique : 0 gr. 784 ; en P^2O^5 , 0 gr. 567.

L'extract sec du complexe est de 30 gr. 500.

A la calcination, le complexe nous donne 2 gr. 300 de cendres.

Comparons le chiffre trouvé au chiffre calculé. Nous devons faire intervenir :
Chaux : 1 gr. 100 ;

P²O⁵ provenant du phosphore de la caséine, sur la base de 0,85 % de phosphore :
0 gr. 560 ;

P²O⁵ provenant de l'acide phosphorique ajouté : 0 gr. 567.

Le total donne : 2 gr. 227.

Le chiffre calculé est presque identique au chiffre trouvé.

Le taux des cendres, par rapport au complexe, est, en chiffres ronds, de 7,5 %.

Si nous nous reportons au tableau que nous avons donné antérieurement sur l'analyse des caséines-présure du commerce, nous avons eu, respectivement, les moyennes suivantes :

7,76, 7,07, 8,60, 7,97, 7,80.

Sauf le second, tous ces chiffres dépassent 7,50, ce qui peut s'expliquer ainsi :

Lorsque, au lieu de nous adresser au complexe synthétiquement préparé, nous travaillons sur le lait, — liqueur dans laquelle, à côté de tous les éléments que nous faisons intervenir dans le complexe, s'en trouvent d'autres qui peuvent, lors de l'emprésurage, se fixer plus ou moins facilement sur la trame protéique, — ces éléments viennent charger d'autant cette dernière et on les retrouvera dans les cendres, à la calcination.

Le chiffre 7,50 est donc un minimum. Il nous permet de dire que, toutes les fois que nous aurons un chiffre inférieur, comme on peut en trouver dans les tableaux que nous avons rappelés tout à l'heure, c'est qu'on était parti d'un lait qui n'était pas frais, d'un lait hyperacide, dont, antérieurement, une partie de la chaux avait été solubilisée.

Essai n° 51. Préparation au laboratoire d'une caséine-présure. — On opère sur 5 litres de lait à 40°, auquel on ajoute 5 cm³ de présure Fabre concentrée. La coagulation se fait en 3 minutes. Le caillé est brisé, puis on le cuit à 65°, graduellement, en élevant la température de 1 degré environ par minute. Il faut donc à peu près une demi-heure. La caséine est recueillie, puis égouttée. On en fait cinq parts. La première (I) n'est pas lavée ; la seconde (II) subit un lavage avec l'eau de la conduite ; la troisième (III) subit deux lavages avec la même eau ; la quatrième (IV), trois lavages, toujours avec la même eau, et la cinquième (V), quatre lavages. Voici le tableau des résultats obtenus :

TABLEAU XXVIII.

INFLUENCE DU LAVAGE SUR LE TAUX DES CENDRES DE LA CASÉINE-PRÉSURE.

Essais	Séchées à l'étuve à 100°	Humidité	Cendres % sur le produit anhydre
I	Aspect pain brûlé	5,56	9,57
II	Moins sombre mais encore teinté	6,16	8,72
III	Blond	5,58	8,64
III	Très légèrement blond	5,88	8,54
IV	Très légèrement blond	7,17	8,40

Ainsi qu'on peut le voir dans le chiffre des cendres, il y a un abaissement du taux de celles-ci avec les lavages. Toutefois, si la différence est grande entre les deux premiers échantillons, celui qui n'a pas été lavé et le second, puisqu'elle atteint 0,85 %, elle est beaucoup plus faible entre ce dernier et ceux qui suivent. Le premier lavage a donc enlevé presque tout ce qui était soluble et, entre l'échantillon II et l'échantillon V, soumis respectivement à 1 et à 4 lavages, la différence dans le taux des cendres n'est que de 0,32. Le dernier chiffre : 8,40, est plus élevé que le chiffre théorique minimum, lequel oscille autour de 7,50. Sans doute faut-il penser à l'influence d'une coagulation rapide, puisque celle-ci a lieu en 3 minutes ; elle permet ainsi d'enclorre à l'intérieur du caillé une charge saline supplémentaire et d'en faciliter la fixation sur la trame protéique.

INFLUENCE DE L'ACIDITÉ DU LAIT SUR LE TAUX DE MINÉRALISATION DE LA CASÉINE-PRÉSURE.

Dans le but de déterminer l'influence de l'acidité du lait sur le taux de minéralisation de la caséine-présure, un lait de 22° D. est acidifié avec une solution d'acide lactique et l'on a des laits dont les acidités respectives, traduites en degrés Dornic, sont de 33°, 43°, 53° D.

Ces laits sont emprésurés deux heures après l'addition de l'acide. On ajoute 0 cm³ 5 d'une présure diluée au 1/10 pour un volume de 50 cm³. Le lait-témoin coagule en 10 minutes. Pour les laits acidifiés, la prise en masse est instantanée. Les caillés sont cuits à 50° et lavés deux fois à l'eau distillée. Tandis que les caillés des laits à 22° D. et 33° D. sont granuleux, ceux des laits très acides 43° et 53° D. sont des masses fluides.

Les poids des caillés et les teneurs en cendres des caséines-présure obtenues sont indiqués dans le tableau suivant :

TABLEAU XXIX.

TAUX DE MINÉRALISATION DE LA CASÉINE-PRÉSURE D'APRÈS L'ACIDITÉ DU LAIT

Essais	Dornic	pH	Poids du caillé par litre de lait	Cendres pour 100 gr. de caillé
52	22°	6,55	37,80	7,89
53	33°	6,14	38,00	6,38
54	43°	5,79	37,87	5,32
55	53°	5,43	37,20	4,25

Les poids des caillés sont voisins pour les trois premiers essais ; ce poids est un peu plus faible pour le dernier.

Les chiffres de cendres sont nettement différents et nous comprenons qu'on puisse obtenir, dans l'industrie, des caséines-présure à des taux très bas en cendres, lorsqu'on travaille sur des laits d'une acidité exagérée.

On a répété la même expérience sur un complexe phosphatique.

Le caséinate d'ammonium, d'un $pH < 7$, a été additionné de chaux, puis d'acide phosphorique ; on a pris soin d'obtenir trois échantillons d'acidités différentes. Le premier complexe a un pH de 7,10 ; le deuxième de 6,86 et le troisième de 6,55.

Dans le but de nous rendre compte de l'influence de la rapidité ou de la lenteur de la coagulation sur la minéralisation du produit obtenu, nous avons fait deux parts égales de chaque complexe. Pour l'une, la quantité de présure est telle qu'il n'a fallu que 15 secondes pour obtenir un caillé ferme ; pour l'autre, la coagulation a demandé 25 minutes. Dans l'un comme dans l'autre cas, les sérums sont plus acides que le complexe ordinaire.

pH des complexes

7,10
6,86
6,56

pH des sérums

6,93
6,70
6,42

Voici, dans le tableau ci-dessous, les résultats de l'humidité et des cendres de chacun des différents essais :

TABLEAU XXX.

INFLUENCE DE L'ACIDITÉ DU MILIEU ET DE LA VITESSE DE L'EMPRÉSURAGE SUR LA MINÉRALISATION DES CAILLÉS PRÉPARÉS A PARTIR D'UN COMPLEXE.

pH des complexes	Emprésurage rapide		Emprésurage lent	
	Humidité	Cendres ramenées au caillé sec	Humidité	Cendres ramenées au caillé sec.
7,10	9,66	9,07	11,37	8,54
6,86	9,09	8,87	14,40	8,36
6,56	10,10	8,57	12,00	7,47

1° Nous notons qu'avec l'emprésurage lent, l'humidité résiduelle est beaucoup plus considérable qu'avec l'emprésurage rapide, mais, par contre, le taux des cendres est nettement moindre.

2° Nous notons également que le taux des cendres va en diminuant, alors que le pH s'enfonce dans la zone acide.

Il est certain que, lorsque l'emprésurage est rapide, le caillé se faisant très vite emprisonne en quelque sorte mécaniquement une plus grande quantité de sels du sérum. Par contre, dans l'emprésurage lent, les sels solubles s'évadent plus aisément du coagulum.

UTILISATION DES LAITS ACIDES POUR LA PRÉPARATION DES CASÉINES-PRÉSURE.

Nous avons vu que tout lait très acide par suite d'une fermentation lactique poussée, n'est pas propre à l'obtention d'une bonne caséine-présure commerciale ; le rendement est moindre et le produit colle sur les claies ; il convient mal pour la fabrication des matières plastiques, selon les techniques actuellement employées. La charge minérale est moindre, ainsi qu'il résulte des recherches qui viennent d'être exposées.

On a pensé que la neutralisation de ces laits, non pas avec une base alcaline qui ne peut être utilisée ici, mais avec de la chaux, en permettant de revenir à la réaction originelle du lait, rendrait ce dernier propre à l'obtention d'une bonne caséine-présure. Ceci, *a priori*, n'a pas lieu de nous surprendre, parce que la chaux, en neutralisant l'acide lactique produit, donne du lactate calcique, refait du phosphate bicalcique avec le phosphate monocalcique formé en excès. Dans sa thèse, Ch. PORCHER (38) parle du « rattra-

(38) *Loc. cit.*, p. 157.

page » du lait, qui consiste à ajouter à un lait acide un lait de chaux. Les quantités à ajouter sont de 0 gr. 40 de chaux par litre de lait, pour le ramener de 30° à 22° Dornic.

En usine, des inconvénients de fabrication s'étant fait sentir par suite de laits trop acides pour la fabrication de la caséine-présure, ces laits ont été additionnés de lait de chaux, pour en ramener le degré Dornic à 22 environ.

On fait un lait de chaux à raison de 1 kg. de chaux pour 10 litres d'eau environ qui est passé sur toile pour qu'il soit très homogène. Pour une cuve de 1.000 litres, si le lait a 30° D. environ, nous voyons que, d'après les quantités indiquées plus haut, 4 litres de lait de chaux suffisent pour avoir l'acidité désirée, que l'on contrôle d'ailleurs par titrimétrie.

La caséine-présure obtenue avec ces laits acides ainsi modifiés a donné toute satisfaction.

LA CASÉINE-PRÉSURE ET LES MATIÈRES PLASTIQUES.

La caséine-présure est particulièrement employée dans l'industrie des matières plastiques. Or, nous venons de voir que le taux de ses cendres peut osciller autour de 7,50 %. Comme ce taux sert de base dans les transactions commerciales, une caséine-présure moins riche en cendres est moins appréciée. On est amené à se demander s'il existe une relation entre la charge minérale de la caséine-présure et son utilisation comme matière plastique.

Nous pouvons concevoir que l'on enlève au paracaséinate calcique le phosphate calcique qui se trouve uni à lui dans la caséine-présure commerciale et il nous est possible, ainsi, de voir dans quelle mesure l'absence du phosphate calcique peut modifier les propriétés dites plastiques de la caséine-présure courante.

Nous tenons à rappeler ce que nous avons dit plus haut, et ce que l'industrie connaît bien : que les caséines-présure faites avec des laits trop acides donnent un produit qui colle, moins riche en cendres que la caséine-présure régulièrement obtenue d'un lait normal.

Plaçons-nous maintenant sur le terrain expérimental :

Si nous emprésurons une solution d'un caséinate calcique de pH 6,5-6,6, le pH moyen du lait, nous n'observons pas de coagulation. Mais si nous ajoutons à la liqueur une certaine quantité de chlorure de calcium, une précipitation immédiate a lieu, sous forme floconneuse et, si l'on opère à 40°, voire même un peu plus haut, les flocons se soudent rapidement les uns aux autres pour donner une masse visqueuse qui n'est rien autre que du *paracaséinate calcique*.

Nous arrivons au même résultat si nous emprésurons la solution du même caséinate, préalablement additionnée de chlorure de calcium. Le gel se forme rapidement avec une bonne présure et, comme sa synérèse est très rapide — *c'est*

là un fait sur lequel nous appelons l'attention, — il se rétracte de plus en plus et se rassemble dans le fond du tube, pour former, si nous portons la liqueur à 50°, une masse quelque peu translucide qui s'étire comme du sucre d'orge.

Nous tenons également à rappeler ce qui se passe lorsque nous emprésurons un complexe formé de caséinate de calcium et de bicarbonate calcique, obtenu par barbotage carbonique dans un caséinate calcique très alcalin, de pH plus grand que 9. Avec une présure plutôt forte, le gel se forme rapidement, mais affecte un aspect spongieux tout à fait caractéristique ; la synérèse en est très rapide ; les travées, comme si elles étaient en caoutchouc, se ramassent sur elles-mêmes et, finalement, l'ensemble du coagulum se ramène à une masse qui se rassemble au fond du tube en ayant le même aspect translucide que tout à l'heure.

Lorsqu'il n'y a pas de sels insolubles de calcium à côté du caséinate, la rétraction du caillé se fait avec une vitesse très grande ; le coagulum se ramasse en une masse compacte, d'un très petit volume vis-à-vis de celui de la liqueur initiale. Lorsque nous nous adressons au complexe habituel, phosphatique, qu'on peut dire être l'image du complexe naturel : caséinate de calcium + phosphates de calcium, la synérèse n'a nullement la même allure. La rétraction du caillé est modérée, toutes choses égales d'ailleurs : réaction du milieu, teneur en caséine, en chaux, et c'est certainement à la présence du phosphate calcique, sel insoluble qui imprègne les travées du coagulum, qu'est due cette moindre rétraction. Le caillé phosphorique se brise facilement quand on plonge dans le tube un agitateur, tandis que le paracaséinate calcique s'étire.

A chaud, le paracaséinate calcique est fluide. Après avoir décanté la liqueur aqueuse surnageante, on peut renverser le tube ; il s'écoule en se refroidissant, pour former des lanières pouvant atteindre 1 ou 2 mètres de long, sans qu'il y ait rupture.

Ce produit adhère plus aux objets que la caséine-présure ordinaire. La dessiccation du caillé chlorhydrique dans une capsule plate en porcelaine est suivie d'une telle adhérence du caillé sec à l'émail du récipient qu'il nous est arrivé, en voulant détacher le caillé, d'enlever l'émail.

Nous pouvons aller plus loin encore dans la simplification que nous avons fait subir, lors de l'emprésurage, au complexe originel du lait et débarrasser, cette fois, le paracaséinate de son calcium, pour obtenir la paracaséine elle-même. Il suffit pour cela, après avoir emprésuré le caséinate de pH 6,5-6,6, non plus de précipiter par un apport d'un sel calcique soluble, mais d'acidifier la liqueur. On traite celle-ci de la même façon que nous traitons une solution de caséinate dont on précipite la caséine, par apport ménagé d'un acide dilué, en suivant, au potentiomètre, l'avance de l'acidification, jusqu'au point isoélectrique. Celui de la paracaséine est un peu différent de celui de la caséine et se rapproche de 5 à 5,2.

Si la précipitation se fait à froid, nous obtenons des flocons qui ont tendance à se rassembler, et si nous chauffons ensuite la liqueur, ils s'unissent en une masse compacte s'étirant facilement avec des reflets irisés. Si la précipitation se fait tout de suite à 40°, voire même 50°, *les flocons, qui ont l'air d'être plus ou moins fondus*, se rassemblent très vite, en donnant cette même masse compacte. Cette paracaséine est très visqueuse, très adhésive. On a pu l'étirer en fils de la grosseur d'un cheveu.

Nous voyons donc qu'en partant de la caséine-présure industrielle pour arriver à la paracaséine elle-même, nous avons diminué, à chacun des paliers où nous nous sommes arrêtés, la teneur en cendres du produit. Qu'il s'agisse de paracasinat calcique ou de paracaséine, ces corps se rattachent, par leurs propriétés, à la caséine-présure, avec une adhésivité plus marquée.

* * *

LA CHARGE MINÉRALE DU PARACASINAT CALCIQUE ET DE LA PARACASÉINE.

Un peu plus haut, nous avons calculé théoriquement quelle devait être la charge minérale minima d'une caséine-présure. Nous avons trouvé qu'elle était de 7,50 et, en cela, elle est tout à fait d'accord avec le standard américain pour la caséine-présure, qui exige que celle-ci ne renferme jamais moins de 7,50 % de cendres.

Nous avons maintenant à donner les quantums de cendres relevant du paracasinat de calcium et de la paracaséine obtenue dans les circonstances que nous venons de relater.

LE SYSTÈME CASÉINAT DE CALCIUM + CHLORURE DE CALCIUM. —

Nous avons préparé un *complexe chlorhydrique* : *caséinate de calcium* + *chlorure de calcium*, par neutralisation de l'excès de chaux d'un caséinate alcalin à 1.100, avec l'acide chlorhydrique. Dans une première expérience, nous avons préparé en même temps, en partant toujours des mêmes quantités de caséine et de chaux, le complexe phosphatique et, dans les deux cas, nous sommes arrivés au même pH : 6,80.

Additionnés d'une même quantité de présure, ces deux complexes coagulent dans le même temps, mais objectivement, comme on l'a vu dans les pages antérieures, la synérèse affecte les différences profondes que nous avons signalées.

Le sérum du complexe chlorure-calcique est extrêmement limpide, comme de l'eau distillée. Nous y avons décelé, en dehors de la protéine du sérum et du chlorure calcique, la présence de phosphate de calcium provenant de la protéose détachée.

Nous allons procéder au calcul théorique du poids du caillé et des cendres de ce dernier. Nous verrons ensuite si le chiffre trouvé se rapproche du chiffre calculé.

Nous sommes partis d'un caséinate à 1.100 ; la quantité d'acide chlorhydrique, au litre, nécessaire pour arriver à un $pH = 6,81$, est de 0 gr. 647. Le calcul de la quantité de chaux salifiant l'acide chlorhydrique donne 0 gr. 496. De l'union de l'acide et de la base, il résulte 0 gr. 984 de $CaCl^2$.

La chaux restant combinée à la caséine est de : 1 gr. 100-0 gr. 496 = 0 gr. 604. Elle est du même ordre de grandeur que la chaux qui se trouve unie à la caséine dans le complexe caséinate de calcium + phosphate de calcium, d'un pH identique.

Dans ce complexe tel qu'il a été préparé, nous avons :

Caséine humide : 30 gr., ce qui fait, en caséine sèche : 28 gr. 40 au litre ;

Chlorure de calcium : 0 gr. 984 ;

Chaux combinée à la caséine : 0 gr. 604 ; soit un total de 30 gr.

L'extrait sec trouvé de 30 gr. 10.

On emprésure à 40°. Comme nous le savons, le caillé obtenu se rétracte très vite et, sec, son poids pour 1.000 gr. de complexe est de 27 gr. 45. Le chiffre des cendres est de 1 gr. 09, soit 3,97 %. Le complexe phosphatique préparé parallèlement, dans les mêmes conditions, nous donne 2 gr. 10 de cendres pour un caillé de 28 gr. 92, soit 7,42 %.

En répétant cette expérience dans des conditions analogues, nous avons eu, pour le caillé chlorhydrique, 4,20 % ; pour le caillé phosphatique, 7,64 %, chiffres qui sont du même ordre de grandeur que les précédents.

Le calcul théorique des cendres du caillé se conduit comme suit : Tout le chlorure de calcium ajouté se trouvant dans le sérum, comme nous le montrons dans une autre expérience, les cendres du caillé sont constituées par le phosphore de la caséine et la chaux salifiant cette dernière. La quantité de phosphore de la caséine, calculé en P_2O_5 , est de 0 gr. 553. Pour salifier la caséine et arriver à un pH voisin de 7, nous avons trouvé, dans nos expériences, qu'il faut environ 0 gr. 600 de chaux pour 30 gr. de caséine ; pour 28 gr. 4, il en faudrait 0 gr. 568, ce qui fait, en $CaO + P_2O_5$, 1 gr. 12. Ce chiffre est assez voisin de celui trouvé : 1 gr. 09.

La présure détache un morceau représentant, au minimum, 4 % de la caséine, soit 1 gr. 13 pour 28 gr. 40. Le coagulum sec ne représente donc que 28 gr. 400 + 0 gr. 568 — 1 gr. 130 = 27 gr. 83. Nous devons, en réalité, obtenir un chiffre plus faible, si nous tenons compte des pertes d'eau résultant de la salification de la caséine par la chaux.

Avec ce chiffre : 27,830, nous obtenons un pourcentage calculé de cendres :

$$\frac{1.121 \times 100}{27,830} = 4,03$$

très voisin de celui trouvé : 3,97.

A côté du caillé, il est intéressant d'étudier le sérum d'emprésurage.

Le poids du caillé est de 27 gr. 45. La différence entre l'extrait sec du complexe et le poids du caillé sec est de 2 gr. 65, que nous devons retrouver dans le filtrat.

Or, le poids de l'extrait sec du sérum d'empréurage est de 2 gr. 83, par litre de sérum, chiffre très voisin du précédent. De leur côté, les cendres du sérum donnent 1 gr. 17 ; elles correspondent à tout le chlorure de calcium du complexe originel : 0 gr. 984, auquel il faut ajouter le phosphore et la chaux appartenant à la protéose du sérum.

TABLEAU XXXI.

SYSTÈME CASÉINATE DE CHAUX + CHLORURE DE CALCIUM.

	Chiffres trouvés	Chiffres calculés
Extrait sec du complexe pour 1.000 cm ³ .	30,10	30,00
Poids du caillé pour 1.000 cm ³ de com- pexe	27,45	27,83
Cendres du caillé	1,09	1,12
Cendres pour 100 gr. de caillé	3,97	4,03
Extrait sec du sérum pour 1.000 cm ³	2,83	2,65
Cendres du sérum pour 1.000 cm ³	1,17	0,98

Une autre expérience a été faite sur un caséinate de chaux chargé en chlorure de calcium dans le but de doser le chlore et le calcium du sérum d'empréurage.

Caséine humide, 33 gr. ; après dessiccation, 30 gr.

Chaux, 0 gr. 560.

On a ainsi un caséinate de pH 6,90, qu'on additionne de chlorure de calcium à raison de 1 gr. par litre.

250 cm³ sont empréurés. La coagulation a lieu en 3 minutes au bain-marie, à 40°. La synérèse est rapide. Le sérum d'empréurage recueilli représente 234 cm³. Le dosage du chlore et de la chaux dans ce sérum donne : taux en chlore, au litre, 0 gr. 630 ; taux en chaux, 0 gr. 560. Le chiffre de 1 gr. de CaCl² additionné au caséinate représente en chlore 0 gr. 630 et en chaux 0 gr. 500.

TABLEAU XXXII.

TENEUR EN CHLORE ET EN CALCIUM DU SÉRUM.

	Quantités doses	Quantités correspondant au CaCl ² ajouté
Chlore par litre de sérum	0,630	0,630
Calcium par litre de sérum	0,560	0,500

Nous avons recueilli 234 cm³ de sérum pour 250 cm³ de caséinate. Dans le caillé, il reste encore de l'eau, 50 % environ, et nous pouvons admettre approximativement que le volume de cette eau est

égal à celui du caséinate sec. Cette remarque faite, nous retrouvons dans le sérum tous les éléments du chlorure de calcium ajouté, avec un excès de chaux à côté duquel se trouve de l'acide phosphorique. Cet acide et l'excès de la base proviennent de la protéose du sérum.

LE SYSTÈME CASÉINATE DE CALCIUM + CARBONATE DE CALCIUM.

— Nous venons de voir que, *a priori*, quel que soit le complexe préparé, dès l'instant que le sel calcique avoisinant le caséinate est un sel soluble : chlorure, bicarbonate, acétate, etc..., nous devons avoir le même taux de cendres du caillé, puisque celui-ci dépend uniquement du paracaséinate calcique, qui est évidemment le même, quelle que soit l'association saline originelle.

C'est ce que nous allons voir avec le *système caséinate de calcium + bicarbonate de calcium*.

Un caséinate calcique alcalin renfermant pour 30 gr. de caséine, 1.100 mmgr. de chaux au litre, est traversé par un courant d'acide carbonique, pendant 10 minutes, à la température ordinaire. Nous arrivons au pH 6,40 que nous ne pouvons pas dépasser, car, au bout de 50 minutes, il n'a pas varié. C'est ce pH que l'on obtient, d'ailleurs, en faisant passer CO_2 en excès dans une eau de chaux pour former du bicarbonate calcique.

On emprèse à 40°. Nous obtenons un sérum un peu trouble, parce qu'il contient quelques traces de carbonate calcique. Il filtre clair et doit être considéré comme une solution de bicarbonate calcique et de la protéose du sérum. Nous avons obtenu 28 gr. 6 de caillé et 1 gr. 09 de cendres, ce qui fait un taux de matières minérales de 3,80 %, chiffre très voisin de celui que nous a donné le caillé chlorhydrique.

Nous arrivons aussi au même résultat en nous y prenant différemment.

Précédemment, nous sommes partis d'un caséinate très alcalin, dans lequel nous avons fait barboter l'acide carbonique pendant un temps suffisant pour transformer en bicarbonate calcique soluble la chaux en excès. Cette fois, nous partons d'un caséinate de $pH = 6,7$ et nous l'emprésurons. Il n'y a pas de coagulation. Nous ajoutons 0 gr. 500 de chaux, environ ; la liqueur devient très alcaline et, en même temps, translucide ; nous y faisons barboter CO_2 et, quand la réaction est redevenue d'un $pH < 7$ et qu'une quantité suffisante de bicarbonate calcique s'est formée, le paracaséinate calcique précipite.

(A suivre.)