d'alumine, de 3 kg. de chaux et de un quart de litre d'eau de Javel, on arrive à un prix de revient inférieur à 4 fr., comme produits, par mètre cube d'eau traitée. Et de ce prix est encore à défalquer la valeur de l'engrais obtenu comme résidu de traitement.

CONCLUSION

Le traitement des eaux résiduaires de fromagerie par le sulfate d'alumine et la chaux, convenablement employés, permet d'avoir des eaux claires, limpides, qui, javellisées, sont stabilisées pendant un certain temps ; elles restent pendant plusieurs jours sans se modifier chimiquement. Jetées dans une rivière ou dans un cours d'eau à faible débit, elles ont suffisamment le temps de se diluer de manière à ne pas modifier sensiblement la composition de l'eau qui les reçoit au point de la souiller.

ÉTUDE DE L'APPRÉCIATION DE LA QUALITÉ DES CASÉINES LACTIQUES

par

JEAN PIEN

Ingénieur chimiste I. C. R.

Docteur ès sciences

Directeur des laboratoires des « Fermiers Réunis »

ROBERT MARTIN

et

MARC BERGIER

Ingénieur chimiste I. C. R.

Ingénieur (I. A. N.)

des laboratoires de la laiterie des « Fermiers Réunis »

(Suite.)

Dans nos articles précédents, nous avons montré la nécessité et énoncé les bases d'un ensemble de méthodes d'examen chimique complémentaire pour l'appréciation de la qualité des caséines lactiques.

Après l'importante question du dosage des formes d'azote soluble, nous passons maintenant, conformément à notre plan, à l'étude du dosage de l'acide lactique.

I. REMARQUE PRÉLIMINAIRE

Une distinction s'impose immédiatement entre l'acide lactique et l'acidité de la caséine.

Il est clair que l'acidité totale d'une caséine comporte une portion importante qui concerne les radicaux acides de la molécule protéique. Ces radicaux font partie intégrante de la caséine et l'acidité qu'ils représentent ne saurait à aucun titre être considérée comme anormale (il s'agit bien entendu ici de caséine lactique ; ce raisonnement ne vaut pas pour la caséine présure).

A côté de cette acidité constitutionnelle, la caséine lactique peut renfermer de l'acide lactique (libre ou combiné) dont la caillebotte était imprégnée au moment de sa fabrication et qui a pu être insuffisamment éliminée par les lavages. Nous sommes là, en présence d'un élément extérieur à la caséine, donc anormal.

Une caséine très pure n'en doit pas renfermer.

Il faut d'ailleurs bien noter qu'en principe, il n'y a pas de rapport étroit entre cet acide lactique et l'acidité soluble de la caséine, pour deux raisons :

1^o L'acide lactique combiné nous intéresse au même titre que l'acide lactique libre. L'un et l'autre sont anormaux et l'acidité soluble ne renseigne pas sur l'acide lactique combiné.

2^o L'acidité soluble comporte nécessairement, à côté de l'acide lactique libre, l'acidité des protéines dissoutes. Celles-ci sont anormales et indésirables ; mais elles sont dosées par ailleurs et elles ne doivent pas, à nouveau, être dosées ici sous une autre forme.

Donc, parmi les éléments extérieurs à la caséine dont le pourcentage est important à connaître, nous envisageons d'une façon spéciale l'acide lactique, libre ou combiné.

II. LES MÉTHODES DE DOSAGE DE L'ACIDE LACTIQUE

Elles sont nombreuses. Mais un très petit nombre seulement sont susceptibles de recevoir une application ici. Nous allons passer rapidement en revue les diverses méthodes employées ordinairement dans ce but et nous nous efforcerons de montrer pour chacune d'elles les raisons qui nous les feront accepter ou rejeter.

On peut classer les méthodes de la manière suivante :

1^o Dosage acidimétrique de l'acide lactique.

2^o Dosage par formation de sels, soit insolubles, soit solubles mais colorés.

3^o Dosage par oxydation de l'acide lactique :

a) en acide cétonique sous l'influence du brome ;

b) en aldéhyde éthylique sous l'influence de l'acide sulfurique ou du permanganate.

Les produits résultant de ces oxydations peuvent ensuite être dosés de différentes manières.

1^{er} GROUPE : DOSAGE ACIDIMÉTRIQUE DE L'ACIDE LACTIQUE

En principe, nous devrions rejeter ce groupe de méthodes pour les raisons données plus haut : on cherche à doser le radical lactique et non pas une acidité quelconque. Néanmoins, il n'est pas mauvais de dire quelques mots de ces méthodes.

Elles se subdivisent en deux :

A) **Titration acidimétrique direct.** — Rien de plus simple que de déterminer l'acidité d'une solution aqueuse (par exemple : acidité d'une macération aqueuse de caséine).

Toutefois, il y a un point sur lequel on se méprend souvent : c'est le choix de l'indicateur.

Si on utilisait toujours des indicateurs monochromes, il suffirait d'en choisir un dont le point de virage soit aussi voisin que possible de $pH = 7,0$.

Mais dans la pratique, on est bien obligé de recourir à des indicateurs bicolores qui présentent d'ailleurs de grands avantages sur les autres.

Il ne faut donc pas oublier que les indicateurs bicolores présentent deux points de virage séparés par une zone de tonalités intermédiaires. Chacun de ces points correspond à un pH bien déterminé et il faut évidemment s'arranger pour que le terme du titrage corresponde à l'un de ces points de virage aussi voisin que possible de $pH = 7,0$.

Donc, faire un titrage acidimétrique en présence d'un indicateur dont les deux points de virage sont situés tous deux à des pH très acides ou très alcalins, constitue une erreur.

Parmi les indicateurs remplissant les conditions requises nous pouvons citer, par exemple : le pourpre de bromocrésol (5,2-6,8), le rouge de phénol (6,6-8,4), le rouge de crésol (7,2-8,8).

Mais cette précaution n'est pas suffisante.

En effet : au cours d'un titrage c'est toujours le *premier* changement de teinte qu'il faut saisir, c'est-à-dire la cessation de la permanence de la teinte initiale. Il est en effet pratiquement impossible de saisir exactement le deuxième virage du colorant, car le problème reviendrait à découvrir le moment où la teinte intermédiaire *cesse de varier* pour devenir constante.

La cessation de la constance (c'est-à-dire l'apparition d'une variation) est plus sûrement saisie que la fin d'une variation. Pratiquement c'est toujours du premier virage qu'il s'agit. *Mais cela suppose évidemment que l'on ait tenu compte du sens du titrage.* Si l'on titre un acide par une base, c'est-à-dire si l'on vient de l'acidité pour aller progressivement vers l'alcalinité, on rencontre, en présence d'un colorant donné, un premier point de virage, celui qui correspond au pH de teinte sensible le plus acide. Si au contraire on titre une base par un acide on va de l'alcalinité vers l'acidité, le premier point de virage rencontré est celui qui correspond au pH de teintes sensibles le plus alcalin.

Donc en utilisant ce *même* colorant pour titrer un acide par une base, ou une base par un acide (l'acide et la base étant les mêmes dans les deux cas) on doit trouver des résultats différents. C'est

effectivement ce qui se produit ; et cela se comprend aisément puisqu'au cours de ces deux titrages on s'est arrêté à deux points différents.

Il faut donc choisir un colorant tel que, *étant donné le sens du titrage*, le premier point sensible soit voisin de $pH\ 7,0$ (l'autre point sensible n'étant jamais utilisé).

Conséquence pratique. — a) Pour les titrages d'un acide par une base (titrages où l'on part de l'acidité pour venir progressivement vers l'alcalinité) il faut prendre un colorant dont le pH de virage sensible *le plus bas* (le plus acide) soit voisin de 7.

Le rouge de phénol (6,6) et le rouge de crésol (7,2) remplissent ces conditions. Dès que ces colorants, jaune franc en milieu acide, commencent à varier, le titrage est terminé et on est très près de la neutralité (des affusions supplémentaires de la base feraient atteindre ultérieurement le deuxième virage, au rouge, dont il n'y a pas à s'occuper).

b) Pour les titrages d'une base par un acide (titrages où l'on part de l'alcalinité pour venir progressivement vers l'acidité) il faut prendre un colorant dont le pH de virage sensible, *le plus haut* (le plus alcalin) soit voisin de 7.

Le bleu de bromothymol (7,6) et le pourpre de bromocrésol (6,8) remplissent ces conditions. Dès que ces colorants, respectivement bleu et rouge en milieu alcalin, commencent à varier, le titrage est terminé et on est voisin de 7 (des affusions supplémentaires de l'acide feraient atteindre en suite la teinte jaune de l'autre point sensible sans intérêt ici) (1).

c) Pour le cas du dosage de l'acide lactique (et de n'importe quel acide d'ailleurs) par une solution de soude titrée, il est clair que les colorants à employer sont *uniquement* le rouge de phénol ou le rouge de crésol.

B) Titrage indirect. — La méthode consiste à mélanger au milieu contenant de l'acide lactique libre, un excès de carbonate de calcium. Il se forme du lactate de calcium suffisamment soluble pour être complètement séparé par filtration de l'excès de $CO_3\ Ca$ insoluble.

Le filtrat contient donc une quantité de calcium proportionnelle à l'acidité initiale. On dose enfin la chaux dans le filtrat (par l'oxalate qu'on pèse ou qu'on titre à son tour par le permanganate).

Tel est, en particulier, le principe de la méthode proposée par MAHEU [1].

(1) On conçoit donc que nous ne recommandions pas le rouge de méthyle (4,4-6,0). Mais il est facile à comprendre aussi qu'avec ce colorant, l'erreur soit faible quand on titre une base par un acide, alors qu'elle est beaucoup plus importante quand on titre un acide par une base.

Cette méthode ne saurait nous convenir dans le cas qui nous occupe, en raison de très *faibles quantités* d'acide lactique que nous aurons éventuellement à doser. La méthode MAHEU, intéressante par exemple pour la fromagerie, ne permet pas le dosage de très petites quantités, encore moins de traces d'acide lactique.

2^e GROUPE : DOSAGE PAR FORMATION DE SELS

On utilise des sels solubles ou insolubles.

A) **Lactates insolubles.** — Le lactate le plus insoluble est le lactate de zinc. Cette propriété a donné naissance à quelques bons procédés devenus classiques, tels ceux de DENIGÈS [2], de SUZUKI et HART [3].

Ces méthodes ne permettent pas assez de sensibilité pour les très petites quantités que nous pouvons avoir à doser.

B) **Sels solubles colorés.** — La réaction d'Uffelmann reprise et modifiée par BERG appartient à ce groupe. Elle consiste à faire apparaître dans un milieu incolore, la coloration jaune du sel ferrique des acides-alcools. Le réactif employé est simplement du chlorure ferrique très dilué auquel UFFELMANN ajoutait un peu d'eau phéniquée pour lui donner une coloration initiale violet améthyste facilitant le contraste avec la coloration jaune qui la remplaçait en présence d'acide lactique.

BERG a supprimé le phénol, à vrai dire inutile, et a légèrement acidifié le réactif (2 gouttes de Fe Cl_3 et 2 gouttes de HCl pour 100 cm^3 d'eau).

Cette réaction n'est d'ailleurs pas spéciale à l'acide lactique. Elle est commune à tous les acides-alcools.

En réalité, il s'agit ici plutôt d'une réaction qualitative que d'une méthode de dosage.

Nous avons essayé d'adapter cette réaction au cas du titrage colorimétrique de l'acide lactique, mais nous avons dû y renoncer en raison de l'absence de proportionnalité entre la coloration et la teneur en acide lactique, d'une part, et d'autre part en raison du manque de sensibilité de la réaction.

3^e GROUPE : DOSAGE PAR OXYDATION DE L'ACIDE LACTIQUE

A) **Oxydation en acide-cétonique.** — L'acide lactique (acide alcool $\text{CH}_3.\text{CHOH}.\text{COOH}$) soumis à l'action de l'eau bromée au bain-marie bouillant voit son radical alcool s'oxyder en cétone pour donner de l'acide pyruvique $\text{CH}_3.\text{CO}.\text{COOH}$.

L'acide pyruvique obtenu s'identifie ensuite aisément par la coloration rouge violacé qu'il donne par addition de nitroprussiate de soude en présence d'un excès d'acide acétique. Bien que SIMON et PIAUT [4] aient utilisé cette réaction au dosage de l'acide lactique

nous avons constaté qu'elle manquait de sensibilité (limite inférieure 1 à 2 gr. par litre).

En outre, il est difficile de conduire l'oxydation dans des conditions toujours rigoureusement identiques. Pour ces deux raisons nous n'avons pas cru devoir retenir cette méthode.

B) Oxydation en éthanal. — Si l'oxydation, au lieu d'être réalisée par le brome, s'effectue à l'aide de l'acide sulfurique ou du permanganate, l'acide lactique se scinde en s'oxydant et libère de l'aldéhyde éthylique, dont il existe de nombreux procédés de caractérisation et de dosage.

Il est intéressant de faire une distinction entre l'action de l'acide sulfurique et celle du permanganate.

a) *Oxydation par l'acide sulfurique.* — A chaud (bain-marie bouillant) en présence d'acide sulfurique *concentré* on obtient :

Il est essentiel que la liqueur contienne moins de 2 % d'acide lactique pour éviter le brunissement de la masse, capable de gêner ensuite les réactions colorées d'identification de l'aldéhyde.

Comme l'acide sulfurique doit rester très concentré il faut en employer 10 fois plus que de solution lactique (exemple : 0 cm³ 2 de solution contenant 4 mgr. d'acide lactique sont additionnés de 2 cm³ d'acide sulfurique de densité 1,84. On maintient 2 minutes au bain-marie bouillant).

L'aldéhyde étant formée il est facile de la caractériser par le gaïacol ou de la codéine (réactions de Denigès et de Chelle) : après refroidissement des tubes on introduit 10 gouttes d'une solution alcoolique de gaïacol au 1/20. On agite et on compare au colorimètre la coloration obtenue avec celle donnée par un témoin d'acide lactique.

Cette méthode est susceptible d'être utilisée, dans certaines conditions et sous certaines réserves, au dosage de l'acide lactique.

b) *Oxydation par le permanganate.* — En milieu acide le permanganate transforme l'acide lactique en éthanal suivant la même réaction que dans le cas de l'acide sulfurique.

L'aldéhyde formée est ensuite entraînée par distillation et dosée dans le distillat de différentes manières :

Méthode Jérusalem [5] : on transforme l'aldéhyde en iodoforme CHI^3 ; on dose l'excès d'iode par l'hyposulfite.

Méthode Sobolewa et Zaleski [6] : l'aldéhyde est dosée au moyen de pyrrol.

Méthode Bellet [7] : on met à profit la propriété réductrice de l'aldéhyde en la faisant agir sur une solution argentine ammoniacomagnésienne.

Méthode Clausen [8] : L'aldéhyde entraînée par distillation est reçue dans une solution de bisulfite de soude. Il se forme une combinaison bisulfitique suivant la réaction classique :

On dose ensuite le sulfite ainsi combiné, par iodométrie. On en déduit l'aldéhyde formée et l'acide lactique initial.

De ces quatre méthodes, la dernière, celle de Clausen, nous a paru de beaucoup la plus intéressante.

Dans ce groupe de méthodes par oxydation en éthanal nous retenons donc celles qui consistent à doser l'aldéhyde formée par colorimétrie (DENIGÈS, CHELLE) et par iodométrie sur une combinaison bisulfitique (Clausen).

Nous allons reprendre plus en détail l'étude des méthodes.

Remarque. — Il existe encore d'autres méthodes de dosage de l'acide lactique ; en particulier la curieuse méthode de Vournasos citée dans le traité de Denigès et qui consiste à transformer directement l'acide lactique en iodoforme sous l'action de l'iode en milieu alcalin. L'iodoforme formé est entraîné par distillation et dosé soit pondéralement (après dessiccation à 60°) soit volumétriquement.

Cette méthode est délicate et ne peut s'appliquer au dosage de petites quantités d'acide lactique. Nous l'avons abandonnée dans le cas qui nous intéresse ici.

III. ETUDE DÉTAILLÉE DES MÉTHODES PAR OXYDATION. EN ETHANAL

Restent donc en présence, comme méthodes susceptibles d'être appliquées ici avec fruit, celles qui consistent à oxyder l'acide lactique en éthanal :

Par l'acide sulfurique, avec titrage colorimétrique au gaïacol ou à la codéine.

Par le permanganate acide, avec titrage iodométrique d'une combinaison bisulfitique de l'aldéhyde.

Quels sont les avantages et les inconvénients de ces deux méthodes en apparence assez voisines ?

1° **L'oxydation sulfurique.** — a) Elle présente le caractère très grave de donner de l'éthanal avec beaucoup d'autres substances que l'acide lactique : en particulier avec le *lactose*.

Pour les recherches poursuivies ici, cet inconvénient serait facilement rédhibitoire puisque nous pouvons, à tout moment, nous trouver en présence de ce sucre.

b) D'autre part, la nécessité d'utiliser de l'acide sulfurique très concentré nous met dans la situation de ne pouvoir travailler en présence de matières organiques un tant soit peu abondantes ; la

coloration brune qui résulterait de leur attaque par l'acide sulfurique au bain-marie bouillant nous empêcherait de juger des réactions colorées ultérieures (gaïacol, codéine).

CHELLE [9] avait déjà rencontré des difficultés analogues dues à la présence de sucres réducteurs et de matières organiques azotées dans le dosage de l'acide lactique dans le sang.

Nous avons pu éviter l'inconvénient du brunissement en présence de matières organiques en déféquant les solutions provenant du lavage ou des macérations de caséine par le sulfate d'ammoniaque à saturation et à chaud.

En revanche, l'inconvénient dû à la transformation du lactose n'a pu être évité. La séparation acide lactique-lactose par l'action de mélanges éthéro-alcooliques appropriés, qui peut être tentée sur des quantités importantes de ces substances, est *inapplicable au cas de très petites quantités*.

c) Enfin le titrage colorimétrique de l'aldéhyde par le gaïacol (ou la codéine) n'est pas réalisable en dehors de certaines limites très précises, car *il n'y a pas proportionnalité entre l'intensité de la teinte et la concentration de l'acide lactique*. La courbe qui représente la variation de la teinte en fonction des concentrations n'est pas une droite mais un arc d'hyperbole comportant une asymptote horizontale dont la courbe est déjà très voisine pour de faibles concentrations de l'acide lactique. Autrement dit, au-dessus d'une certaine teneur on obtient une tonalité qui n'augmente plus.

La méthode n'est donc applicable que pour de faibles traces d'acide lactique (1). Si on veut l'appliquer à des quantités plus importantes, on doit faire intervenir un facteur de multiplication tellement important qu'on commet de grosses erreurs.

À cet égard, l'application de cette réaction à l'étude des caséines industrielles déjà préconisée par TAPERNOUX et FERRY [10] nous paraît très problématique d'après les essais que nous avons entrepris. En somme, la pratique nous a vite montré que les possibilités d'application de cette méthode au gaïacol sont des plus limitées et il ne saurait nullement être question d'en faire une méthode générale de dosage de l'acide lactique (2).

2° L'oxydation permanganique. — Beaucoup plus intéressante, en revanche, est la formation d'éthanal par le permanganate.

(1) Elle est même très sensible puisqu'on a encore une coloration nette avec un centième de milligramme d'acide lactique.

(2) Notons toutefois que pour les cas où cette méthode peut être appliquée (absence de lactose et de protéine) la gamme de comparaison peut être faite une fois pour toutes avec des solutions aqueuses de nouvelle cochine (Ponceau brillant 4 R). Si on veut absolument utiliser le colorimètre avec un témoin titré il faut se résigner à construire préalablement une abaque à cause de la forme spéciale de la courbe des teintes en fonction des concentrations.

Les avantages essentiels de cette méthode sont les suivants :

a) Le permanganate, dans les conditions du dosage selon CLAUSEN, ne transforme pas le lactose en aldéhyde éthylique. Ce point est capital puisqu'il nous permet de doser l'acide lactique en présence de sucres réducteurs. Le chiffre théorique d'acide lactique introduit est retrouvé (à 1 ou 2 % près) même en présence de dix-fois plus de lactose.

b) La méthode est assez sensible ; elle permet de déceler 0 mmgr. 2 d'acide lactique. Elle est évidemment moins sensible que le gaïacol, mais elle possède l'avantage énorme d'être beaucoup plus précise : les erreurs commises n'excèdent pas deux à trois pour cent du chiffre théorique d'acide lactique introduit.

c) La présence de matières organiques azotées modifie l'allure du dosage (la quantité de permanganate à utiliser est plus grande), mais la quantité d'aldéhyde formée à partir de l'acide lactique n'est pas inférieure et le résultat reste exact.

d) Les seuls inconvénients de la méthode sont les suivants : on dose tous les acides-alcools α (et non pas seulement l'acide lactique). Mais il en est de même de toutes les autres méthodes de dosage de cet acide, et d'ailleurs cette circonstance ne peut pas nous gêner.

La méthode est délicate à conduire, quand on n'en a pas l'habitude. Nous donnerons ci-après la technique qui permet néanmoins d'obtenir d'excellents résultats.

En revanche, cette méthode présente de si réels avantages que nous n'avons pas hésité à l'adopter et nous pouvons affirmer que pour le problème qui nous occupe, elle est de beaucoup supérieure à toutes les autres.

IV. MÉTHODE ARRÊTÉE POUR LE DOSAGE DE L'ACIDE LACTIQUE (Adaptation de la méthode CLAUSEN.)

1^o Principe. — Oxydation de l'acide lactique par le MnO_4K dilué en milieu sulfurique à chaud. Distillation continue de l'aldéhyde formée. Combinaison de l'aldéhyde avec le bisulfite de soude. Destruction de l'excès de bisulfite par l'iode. Décomposition de la combinaison bisulfitique de l'aldéhyde et titrage à l'iode du bisulfite ainsi libéré.

Du titrage iodométrique on déduit l'acide lactique initial, sachant que 1 cm^3 d'iode N/100 correspond à 0 mmgr. 45 d'acide lactique.

2^o Appareil. — Un petit ballon contenant la solution d'acide lactique porte une petite ampoule à brome et un tube de départ des vapeurs se rendant à un réfrigérant (de Vigreux de préférence). Le ballon est installé dans un bain-marie. Le réfrigérant est ensuite

relié à deux flacons laveurs renfermant une quantité quelconque de bisulfite de sodium environ N/20.

DOSAGE DE L'ACIDE LACTIQUE EN PRÉSENCE DE LACTOSE ET DE PROTÉINE
(ADAPTATION DE LA MÉTHODE CLAUSEN)

Enfin, on ménage un dispositif permettant de faire un entraînement d'air dans tout le circuit.

3^e Mode opératoire. — On introduit dans le ballon une quantité connue (par exemple 10 cm³) de la solution où on veut doser l'acide lactique. Il y a intérêt à ce que la solution soit diluée. (Ne pas dépasser un gramme par litre environ.) En outre, il est très recommandé d'ajouter 30 à 40 cm³ d'eau distillée pour faciliter les entraînements.

Le ballon étant installé dans un bain-marie bouillant (et relié au reste de l'appareil) on y introduit, à l'aide de l'ampoule à brome, du permanganate environ N/100 contenant 1 % d'acide sulfurique.

On introduit seulement 2 cm³ de permanganate à la fois. Il est en effet essentiel de n'avoir jamais un grand excès de permanganate en présence de l'aldéhyde qui se forme ; faute de quoi on risquerait d'oxyder celle-ci et les résultats trouvés seraient trop faibles.

Dès que les deux premiers cm³ de MnO⁴K sont introduits on commence à faire une légère dépression dans le circuit. Les vapeurs entraînées par aspiration se condensent dans le réfrigérant et descendent dans le premier flacon à bisulfite. (Celles qui auraient échappé à la condensation et à la combinaison complète dans le premier flacon laveur, seraient arrêtées et fixées par le second.)

Quand on a obtenu la décoloration de la première affusion de permanganate, on en introduit à nouveau 2 cm³ tout en maintenant une légère dépression dans le circuit.

Finalement on s'arrête quand une nouvelle affusion ne se décolore plus (ce qui se produit généralement très vite si la solution contient peu de matières organiques).

On balaie finalement l'appareil par un courant d'air assez fort pour entraîner les dernières traces d'aldéhyde contenues dans le ballon.

Pour fixer les idées, notons qu'il y a intérêt à recueillir un distillat (dans le premier flacon laveur) d'environ 40 cm³ pour 5 mmgr. d'acide lactique mis en œuvre.

On débranche l'appareil et on verse dans les flacons laveurs de l'iode N/10 pour détruire l'excès de bisulfite. On achève cette réaction avec de l'iode N/100 en présence d'empois d'amidon pour s'arrêter très exactement à la destruction complète du bisulfite libre sans excès d'iode appréciable (coloration bleue avec une goutte).

La combinaison aldéhyde-bisulfite est alors décomposée par addition d'un excès de solution saturée de bicarbonate de soude. La coloration bleue disparaît bien entendu. Le sulfite libéré est titré par l'iode N/100 jusqu'à réapparition du virage au bleu. La quantité d'iode N/100 ainsi versée dans cette dernière opération, est notée. Sachant que 1 cm³ d'iode N/100 correspond à 0 mmgr. 45 d'acide lactique on en déduit le titre de la solution initiale. (Notons que le deuxième flacon laveur ne donne pratiquement rien si l'opération a été bien conduite.) On vérifie en fin de dosage qu'un nouvel apport de bicarbonate ne libère pas à nouveau du sulfite, ce qui indiquerait qu'on n'avait pas décomposé toute la combinaison bisulfitique. (Une quantité de 20 à 30 cc. de bicarbonate saturé est toujours suffisante.)

4° Essai pratique de la méthode. — Une solution d'acide lactique pur à 1 gr. par litre a été préparée. Après l'avoir débarrassée de sa lactone, elle a été dosée par un alcali titré en présence du rouge de phénol. Le dosage selon CLAUSEN a ensuite été effectué.

a) *Cas de l'acide lactique pur.* — Nous retrouvons toujours 98 à 99 % de l'acide mis en œuvre. Le dosage est effectué sur 10 cm³ (c'est-à-dire 10 mmgr. d'acide lactique en valeur absolue); l'opération complète dure une demi-heure.

b) *Cas du lactose pur sans acide lactique.* — Il n'y a aucune formation d'éthanal et le résultat du dosage est nul, comme il se doit, même en présence de 50 mmgr. de lactose (10 cm³ d'une solution à 5 gr. par litre).

c) *Cas du mélange acide lactique-lactose.* — On retrouve toujours l'acide lactique introduit, même en présence de dix fois plus de lactose.

d) *Cas de la présence de protéines.* — La présence de protéines ne gêne pas. L'opération est rendue plus longue et plus pénible parce qu'on consomme des quantités plus importantes de permanganate pour détruire ces protéines. Mais nous avons toujours finalement retrouvé l'acide lactique introduit, même en présence de *caséine entière* (préalablement bien lavée pour qu'elle n'apporte pas d'acide lactique).

Nous sommes donc en présence d'une méthode très sûre, un peu délicate sans doute, mais remplissant toutes les conditions exigées, c'est-à-dire capable de doser les radicaux lactiques avec certitude, malgré la présence de lactose et de matières organiques azotées.

Nous allons maintenant l'appliquer à l'étude des macérations aqueuses de caséine lactique.

(A suivre.)

BIBLIOGRAPHIE.

- [1] MAHEU. *Thèse Fac. Méd.*, Paris 1921. Lefrançois.
- [2] DENIGÈS. *Traité Chimie analytique*.
- [3] SUZUKI et HART. *Journ. of Am. Chem. Soc.*, XXXI, p. 1364, 1909.
- [4] SIMON et PIAUT. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1924, p. 477.
- [5] E. JERUSALEM. *Bioch. Zeits.*, 1908, p. 361 et 379.
- [6] SOBOLEWA et ZALESKI. *Zeits. Phys. Chem.*, CXIX, p. 441, 1910.
- [7] BELLET. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, XIII, p. 565, 1913.
- [8] CLAUSEN. Cité par DENIGÈS, *Traité chimie analytique*.
- [9] CHELLE. *Bull. Soc. Phys.*, Bordeaux 1914.
- [10] TAPERNOUX et FERRY. *C. R. Soc. Biol.*, 1929, n° 14, p. 1213.

A PROPOS D'UNE NOUVELLE MÉTHODE DE NUMÉRATION DIRECTE DES MICROBES DU LAIT

par M. Emm. POZZI-ESCOT

Professeur de Chimie à l'Institut National Agronomique du Pérou,
Fondateur du Laboratoire national de microbiologie agricole du Pérou.

Le Lait nous donne dans le numéro de janvier de cette année (page 37 et suivantes) une étude très intéressante de M. BOGDANOFF sur une nouvelle méthode de numération directe des microbes du lait, pour laquelle il utilise le mélange du lait avec une émulsion de concentration connue de cellules volumineuses (levures Schizo). Sans méconnaître les mérites que peut présenter ce procédé dans certains cas particuliers (les levures Schizo sont surtout communes dans nos pays chauds), je désire cependant signaler aux lecteurs de la revue *Le Lait* qu'il y a de bien longues années que j'utilise un procédé en tous points analogue et que je l'ai fait connaître dans toute une série de publications, qui, je le vois, n'ont pas mérité de retenir l'attention du nouvel inventeur, et, cependant, le *Bulletin de la Société Chimique de Belgique*, de la *Société Chimique de France*, *Le Lait* lui-même et *Chemical Abstracts* sont des références qui, d'habitude, suffisent amplement.

Je dois reconnaître qu'à l'époque de ma publication, la question de la numération bactérienne dans le lait, appliquée depuis bien longtemps déjà en Amérique, était ou tout à fait inconnue en Europe ou