tillons individuels ; 10 % des laits ont montré une teneur en beurre comprise entre 12 et 26 grammes.

* * *

Pour conclure nous pouvons dire que les chiffres obtenus au Maroc et en Algérie n'ont rien de commun avec ceux mentionnés par PIGNEUR et par ELS au Congo belge et par CURASSON au Soudan.

A part quelques laits individuels, en nombre restreint, qui ont montré une composition vraiment anormale, les moyennes sont beaucoup moins élevées.

En tenant compte des réserves nécessaires qu'il faut faire sur les conditions hygiéniques de la production du lait, il nous apparaît raisonnable d'admettre que le lait des vaches marocaines puisse servir à l'alimentation des enfants. Afin de ne pas donner, même à titre exceptionnel, un lait qui pourrait risquer d'être trop riche en matière grasse et matière protéique, les laits du commerce résultant du mélange de laits de vaches marocaines et de vaches européennes conviennent parfaitement à l'alimentation des enfants.

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.)

Après avoir arrêté une méthode de dosage de l'acide lactique (tirée de la méthode classique de Clausen) et montré que cette méthode possède l'avantage, contrairement à beaucoup d'autres, de permettre le dosage malgré la présence de sucres réducteurs et de protides, nous devons maintenant montrer l'application que nous en avons faite à l'étude des caséines lactiques.

I. DOSAGE DE L'ACIDE LACTIQUE SOLUBLE À L'EAU DANS LES CASÉINES

Une caséine théorique, c'est-à-dire préparée dans des conditions parfaites (et suivant les prescriptions données dans un de nos précé-

dents articles) et lavée à fond, ne doit pas contenir d'acide lactique libre ou combiné.

Une caséine industrielle bien préparée en contient toujours un peu.

La méthode que nous avons adoptée dose non seulement l'acide lactique libre mais aussi les lactates.

Il est intéressant de connaître le rapport de l'acide lactique libre à l'acide lactique total dans une caséine. Nous pouvons, dans une certaine mesure, dire que l'acide lactique libre sera approximativement donné par un dosage acidimétrique du centrifugat d'une macération aqueuse (à condition de faire appel comme indicateur au rouge de phénol pour les raisons précédemment exposées).

Si nous prenons donc une macération aqueuse obtenue dans les conditions décrites au dosage des formes d'azote soluble et, que sur cette macération centrifugée, nous effectuions, d'une part un titrage acidimétrique au rouge de phénol, d'autre part un titrage par la méthode Clausen, voici ce que nous obtenons :

1^o Cas de caséines très pures. — (Résultats en acide lactique % de caséine sèche) :

	Caséine A	Caséine B
Acide lactique libre (acidimétrie)	0,18	0,15
Acide lactique total (Clausen)	0,21	0,19

Nous notons un écart en excès par la méthode Clausen. Or, nous savons que cette méthode est assez précise pour que cet écart ne tienne pas à une incertitude d'analyse.

Nous sommes donc fondés à conclure qu'il existe, à côté de l'acide lactique libre, une certaine quantité d'acide lactique combiné (lactate de chaux vraisemblablement.)

2^o Cas d'une caséine mal lavée — Influence des lavages.

— Nous avons préparé au laboratoire, dans de bonnes conditions, une quantité assez importante de caillebotte dont nous avons fait plusieurs parts.

L'une des parts a été séchée sans avoir été lavée. Les autres ont subi un, deux ou trois lavages (séparés par des pressages) avant la dessiccation.

Sur toutes ces portions, nous avons dosé l'acide lactique soluble libre (acidimétrie) et total (Clausen) sur des macérations aqueuses. Par différence on peut en déduire ce qu'on est fondé à considérer comme des lactates solubles. Voici les résultats obtenus (en acide lactique % de caséine sèche) :

	Acide lactique total	Acide lactique libre	Acide lactique combiné
Caillebotte non lavée	1,18	0,76	0,42
Caillebotte lavée 1 fois	0,50	0,27	0,23
Caillebotte lavée 2 fois	0,22	0,16	0,06
Caillebotte lavée 3 fois	0,12	0,07	0,05

La notion de la présence de lactates minéraux se précise ici et nous voyons, comme il était facile de le prévoir, que plus la caillebotte est lavée, plus l'élimination de l'acide lactique et des lactates est complète.

3° Durée des macérations. — La durée des macérations aqueuses nécessaire et suffisante pour obtenir la mise en solution de la totalité d'acide lactique et des lactates est très courte.

Un grand nombre d'essais nous ont montré que pour des caséines courantes (c'est-à-dire renfermant assez peu de radicaux lactiques) on obtient toujours les mêmes chiffres après une heure de macération qu'après 18 et 36 heures.

Toutefois, dans le cas de caillebottes n'ayant pas été lavées, la macération d'une heure ne donne que 80 ou 90 % du chiffre total, lequel est obtenu quelques heures plus tard.

En pratique ce cas ne se rencontre jamais. Il suffira donc — tant pour doser l'acidité libre par acidimétrie que pour doser les radicaux lactiques par la méthode Clausen — d'opérer sur des macérations d'une heure seulement qu'il est par conséquent inutile de chloroformer.

4° Discussion. — Nous avons dit que l'écart entre l'acide lactique libre et le dosage selon Clausen était dû à la présence de lactates dans la caséine.

Cet écart doit, en réalité, être plus grand que ne l'indiquent nos analyses, car nous n'ignorons pas que dans les macérations aqueuses même dans le cas de caséines très pures, on retrouve toujours un peu d'azote soluble (il s'agit bien entendu de centrifugats optiquement vides).

Donc l'acidité titrée directement au rouge de phénol ne représente pas exactement la teneur en acide lactique soluble, mais donne un chiffre certainement supérieur à cette quantité réelle.

Il ne saurait être question de rectifier ce chiffre par le dosage de l'azote dans les macérations, car nous ignorons quel coefficient il faudrait appliquer au taux de protides trouvés (exprimés en azote) pour en déduire leur acidité (exprimée en acide lactique). Pour la caséine globale brute ce coefficient est certainement voisin de 0,6 ou 0,7, mais nous n'avons pas le droit de l'appliquer ici, car l'azote soluble des macérations centrifugées n'est pas constitué par de la caséine vraie.

Par conséquent, l'acide lactique libre véritable (et soluble) est toujours certainement inférieur au titrage acidimétrique au rouge de phénol et la teneur en *lactates* solubles d'une caséine est supérieure à l'écart constaté entre ce titrage et le dosage des lactates totaux selon CLAUSEN.

C'est la raison pour laquelle, ainsi que nous l'avons déjà dit, le renseignement fourni par la méthode Clausen est beaucoup plus sûr et plus précis que le titrage acidimétrique. Il indique avec certitude le pourcentage de radicaux lactiques (libres ou combinés) et cela seulement.

Dans une étude un peu sévère d'une caséine lactique donnée, ce dosage doit avoir sa place.

II. ETUDE DES SOLUTIONS ALCALINES DE CASÉINE

Au cours de nos recherches sur l'application de la méthode Clausen à l'examen des caséines, nous avons été amenés à nous demander si la teneur en acide lactique (libre ou combiné) des macérations aqueuses coïnciderait avec le chiffre qui résulte du dosage de l'acide lactique total dans les solutions aqueuses.

Nous nous étions tenu le raisonnement suivant : on sait depuis les travaux de LÖB que les protides présentent des propriétés très différentes suivant qu'on les considère en deçà ou au delà de leur point isoélectrique.

Fonctionnant comme acides s'ils ont un pH supérieur à ce point, ils sont capables de fonctionner comme base en dessous de ce point (l'existence de chlorures de gélatine ou d'albumine à des pH plus acides que 4,7 ; existence de gélatinates et d'albuminates à des pH moins acides que 4,7, neutres, ou alcalins).

Il en est de même de la caséine. Rien ne s'oppose *a priori* à ce qu'une caséine précipitée à un pH de 4 par exemple présente la propriété de former des sels de caséine, alors qu'au-dessus du pH 5, elle donne des caséinates (le point isoélectrique de la caséine étant également voisin de 4,7).

Donc si la précipitation de la caséine se forme dans un lait atteignant un pH inférieur numériquement à 4,7, on peut supposer qu'il se formera des lactates de caséine, alors qu'au-dessus de ce chiffre on aura des caséinates. C'est une hypothèse de travail conforme à nos connaissances actuelles.

Nous avons poursuivi dans ce sens quelques essais que nous nous proposons de reprendre et de compléter en dehors du programme dont nous achevons actuellement l'étude. Nous avons donc préparé des caséines de pH divers.

S'il y a véritablement fixation *chimique* (car, dans la théorie de Loeb, il s'agit bien d'une combinaison chimique, obéissant aux lois

stœchiométriques de la chimie cristalloïde), comment mettre cet acide lactique fixé en évidence ?

Si nous lavons convenablement une caséine précipitée à pH 4 par exemple, de manière à éliminer aussi complètement que possible acide lactique et lactates solubles, on obtiendra par un Clausen sur la macération aqueuse, un chiffre nul ou très faible. Si nous mettons cette caséine en solution dans la soude, il y aura double décomposition du lactate de caséine éventuel (puisque la soude est une base plus forte que la caséine prise à ce pH) et il se formera du lactate de soude et du caséinate de soude. La méthode Clausen nous permettant de doser l'acide lactique ou les lactates minéraux, même en présence de matières organiques, nous devrions avoir, dans ce cas, un chiffre d'acide lactique beaucoup plus élevé que dans le cas de la macération aqueuse.

C'est précisément ce que l'expérience nous a fourni.

Technique. — 1 gr. de caséine mis en solution dans 20 cm³ de soude décimale. Après dissolution complète, une partie aliquote est juste neutralisée par de l'acide sulfurique décimale (car la méthode Clausen exige un milieu neutre ou acide). La totalité du liquide et du précipité est introduite dans le ballon de l'appareil Clausen et les lactates dosés par la méthode habituelle (la quantité de MnO^4K utilisée est évidemment assez grande en raison de la présence d'une forte quantité de matières organiques. Mais, comme nous l'avons montré, cette circonstance ne gêne en rien le dosage de l'acide lactique et ne le fausse pas).

Résultats :

	Caséine 1	Caséine 2
pH de la caséine	4,10	4,52
Acidité du lait au moment de la précipitation ..	85° Dornic	72° Dornic
Acide lactique sur la solution sodique	1,03 %	0,94 %
Acide lactique sur la macération aqueuse	0,21	0,19

Cet essai nous montre bien que, conformément aux théories actuellement admises, on peut considérer comme raisonnable l'existence de lactates de caséine *insolubles* (non éliminables par lavage) et peu ou pas dissociables sous l'action de l'eau.

Nous nous proposons de poursuivre cette étude qui peut avoir des répercussions importantes dans d'autres domaines de l'industrie du lait.

La conclusion pratique à tirer de ces premiers essais pour le but que nous poursuivons ici est la suivante : il peut exister des caséines très pauvres en matières minérales (précipitées à des pH très acides et bien lavées) qui ne sont cependant pas des caséines théoriquement pures. Elles peuvent renfermer, fixé à la molécule

de caséine et non éliminable par lavage, de l'acide lactique dont la présence n'est peut-être pas indifférente dans certaines applications industrielles.

III. LA NOTION D'ACIDITÉ DES CASÉINES

L'acidité d'une caséine lactique correspond à trois notions qu'il convient d'envisager séparément :

1^o L'acidité propre « constitutionnelle » de la molécule protéique. C'est l'acidité d'une caséine théorique.

2^o L'acidité « extérieure » à cette molécule, représentant l'acide lactique libre, résiduel, imparfaitement enlevé par les lavages dans les caséines industrielles.

3^o L'acidité « totale » représentant la somme des deux autres.

M^{lle} BRIGANDO a très bien dit, dans l'étude qu'elle a publiée récemment ici même, que « l'acidité totale titrable qui rassemble l'acidité de l'édifice protéique et celle de l'acide résiduel n'a pas une grande signification ».

Pour cet auteur, ce qui importe le plus, c'est l'acidité soluble telle qu'on peut l'obtenir par épuisement ou macération aqueuse.

La connaissance de cette acidité extérieure permet surtout un contrôle de la façon dont le produit a été lavé.

Mais nous pensons qu'il y a également le plus grand intérêt à connaître l'acidité « constitutionnelle », c'est-à-dire l'acidité de la molécule de protéine ; car la connaissance de cette donnée renseignera sur la façon dont la caséine aura été déminéralisée au cours de sa préparation.

Certes les cendres apporteront, elles aussi, un renseignement précieux. Mais cette détermination ne permettra pas *a priori* de faire la discrimination entre les matières minérales *fixées* à l'état de caséinate et celles qui subsisteraient par suite d'un défaut de lavage. La connaissance de l'acidité « constitutionnelle » permettra de résoudre cette difficulté.

Une caséine à haute teneur en cendres et à acidité « constitutionnelle » normale représentera une caséine bien précipitée, bien déminéralisée, mais mal lavée ; alors qu'une caséine à haute teneur en cendres et à acidité « constitutionnelle » trop faible indiquera une matière mal déminéralisée, quoique ayant pu être lavée à fond.

En conséquence, nous attachons beaucoup de prix à la connaissance du chiffre d'acidité « constitutionnelle ».

Or, aucun moyen commode et sûr ne permet de déterminer directement cette acidité de la molécule plus ou moins salifiée.

Il ne nous reste, pour la pratique courante, qu'un procédé acceptable : faire la différence entre l'*acidité totale* et l'*acidité extérieure*.

Donc l'acidité totale, envisagée sous cet angle, constitue une notion capitale qu'il ne faudra jamais négliger.

Enfin ces notions d'acidité doivent être complétées par l'appréciation des taux d'acide lactique (libre ou combiné), pour permettre des interprétations raisonnables des résultats de l'analyse. Il ne suffit pas en effet de savoir si l'acidité « extérieure » est élevée. Les caséines provenant de caillebottes bien lavées mais ayant fermenté, possèdent une acidité extérieure due à des protéines solubles qu'il ne faut pas confondre avec l'acide lactique provenant du mauvais lavage d'une caillebotte normale. Les conclusions pratiques à tirer de l'analyse pour conseiller l'industriel qui fabrique ou utilise la caséine, doivent être fondées sur la connaissance de la nature de ces acidités et c'est pourquoi nous avons tant insisté sur la nécessité de doser l'acide lactique lui-même.

En résumé. — La notion d'acidité des caséines lactiques est complexe.

Elle repose sur la connaissance des formes d'acidité suivantes :

1^o Acidité totale ;

2^o Acidité « extérieure » avec la connaissance de la fraction de cette acidité représentée par de l'acide lactique ;

3^o Acidité « constitutionnelle » de la molécule protéique.

IV. LES TECHNIQUES DU DOSAGE DE CES DIVERSES FORMES D'ACIDITÉ

1^o Acidité totale. — L'unanimité s'est à peu près faite à l'heure actuelle sur la méthode du titrage en retour de Browne que beaucoup d'auteurs ont préconisé depuis (DEFLEURS, ULEX, M^{lle} BRIGANDO) et que nous recommandons à notre tour.

Voici le mode opératoire que nous avons arrêté : Un gr. de caséine, en poudre de préférence, est mélangé à 20 cm³ de soude N/10 dans une petite éprouvette à pied bouchant à l'émeri (verser la caséine sur la soude et non l'inverse pour éviter de former un bloc impossible à remettre en suspension). Agiter doucement, puis laisser en contact jusqu'à dissolution complète en renouvelant de fréquentes agitations. La dissolution est rapide. Le contact sera maintenu 30 minutes à froid.

On prélève alors 10 cm³ de cette solution (correspondant à 0 gr. 5 de caséine) et on titre en retour l'excès d'alcalinité par de l'acide sulfurique N/10 en présence de 5 gouttes de phénolphthaléine à 2 %.

On s'arrête à la décoloration totale.

La discussion à laquelle nous avons procédé dans notre dernier article relativement au choix des indicateurs en acidimétrie, s'appli-

quait au cas de *solutions aqueuses d'acide lactique*. Théoriquement, les indicateurs bicolores étudiés peuvent convenir au titrage de l'acidité totale des caséines. Pratiquement, la chose est matériellement impossible en raison d'une grosse incertitude de virage, due au pouvoir tampon de la caséine présente. Le titrage n'est réellement possible qu'avec la phtaléine du phénol. L'erreur absolue qui est commise de ce fait n'est certes pas négligeable, mais l'erreur relative qui en résulte sur l'acidité totale est très faible.

Il faut éviter autant que possible au cours de cette titration la formation de gros flocons de caséine. On y parviendra en agitant vivement la solution pendant le titrage et en exécutant celui-ci rapidement.

Soient N cm³ d'acide N/10 versés en retour. L'acidité « totale » de la caséine est donnée par la formule :

$$(10 - N) \times 0,009 \times 200$$

Le résultat est donc exprimé, *conventionnellement*, en acide lactique.

2° Acidité extérieure. — La technique que nous avons adoptée, légèrement différente des techniques courantes d'épuisement, est basée sur ce que nous avons déjà proposé pour les macérations aqueuses en vue du dosage de l'azote soluble.

10 gr. de caséine finement broyée sont mis à macérer dans 200 cm³ d'eau distillée. On bouche au caoutchouc et on agite fréquemment. Au bout d'une heure, on décante une certaine quantité de liquide (supérieure à 100 cm³) et on centrifuge à 1.200 tours pendant 30 minutes dans une série de tubes pour éliminer les protéines insolubles. On prélève exactement 100 cm³ du centrifugat (correspondant à 5 gr. de caséine) et on titre l'acidité de cette liqueur par de la soude N/10 en présence de 1 goutte de rouge de phénol à 0,4 % (1).

Ici l'utilisation du rouge de phénol est possible et mène à un résultat très exact. L'utilisation de la phtaléine conduirait à une *erreur relative* assez importante.

Soient N cm³ de soude N/10 versés.

L'acidité extérieure de la caséine exprimée en acide lactique est représentée par :

$$N \times 0,009 \times 20$$

3° Acide lactique extérieur — Le dosage de l'acide lactique véritable sera également effectué sur une macération aqueuse analogue, par la méthode Clausen décrite au précédent article, en opérant sur 40 cm³ de macération (correspondant à 2 gr. de caséine).

(1) *Préparation du rouge de phénol* : On broie 0 gr. 1 de colorant avec 5 cm³ 7 de soude N/20. On complète à 25 cm³ avec de l'eau. On obtient ainsi une solution à 0,4 %.

Pour des caséines riches en acide lactique libre (par exemple donnant une acidité extérieure de plus de 0 gr. 5 % au rouge de phénol) il faudrait diminuer la prise d'essais de manière à n'introduire dans le ballon de Clausen que des quantités d'acide lactique égales ou inférieures à 10 mgr. en valeur absolue.

Remarque importante. — Nous avons été frappés des chiffres relativement élevés que l'on rencontre dans la littérature pour l'acidité extérieure. Nous estimons que tous ces chiffres sont faux par excès et pour la raison suivante :

Les titrages sont effectués sur des macérations filtrées. Or, ces macérations sont presque toujours louches et nous avons fait la preuve qu'elles contiennent toujours beaucoup de protéines même non dégradées, dont l'acidité est comptée comme acide lactique. Cet inconvénient disparaît en centrifugeant comme nous le prescrivons, et surtout en dosant l'acide lactique par la méthode Clausen.

4° Acidité constitutionnelle — Elle se déduit des résultats précédents en soustrayant l'acidité extérieure de l'acidité totale.

Si l'acidité extérieure au rouge de phénol est très supérieure à l'acide lactique extérieur selon Clausen, même pour des macérations bien centrifugées (cas des caséines altérées), c'est ce dernier chiffre qu'il faut faire intervenir ; cette circonstance signifie en effet qu'on a affaire à beaucoup de protéines *solubles*, non centrifugeables, comptées à tort comme acide lactique dans le titrage acidimétrique direct de la macération. L'acidité constitutionnelle serait faussée et pourrait faire croire à une caséine fortement minéralisée alors qu'on serait en présence d'une caséine ayant fermenté.

Dans la pratique on ne prendra le titrage direct au rouge de phénol comme terme soustractif que s'il est inférieur ou égal au dosage de l'acide lactique vrai.

En revanche, un excès du Clausen sur le titrage direct signifierait qu'on est en présence d'acide lactique et de lactates minéraux dans la macération aqueuse. Dans ce cas, c'est le chiffre du titrage direct qu'il faudrait prendre. En tout état de cause, l'acidité extérieure est toujours représentée *avec le plus d'exactitude* par le *plus faible* de ces deux dosages qui doivent donc toujours être effectués l'un et l'autre.

L'excès de l'un signifie protéines dissoutes (fermentation). L'excès de l'autre signifie lactates (de chaux vraisemblablement) (mauvais lavage).

Le plus faible étant soustrait de l'acidité totale, on obtient l'acidité constitutionnelle (toujours exprimée conventionnellement en acide lactique).

Remarque. — Le fait de soustraire une acidité extérieure titrée

au rouge de phénol, d'une acidité totale titrée à la phtaléine constitue évidemment une incorrection. Mais l'erreur relative qui en résulte pour l'acidité constitutionnelle est faible et cette erreur a beaucoup moins d'importance pratique que celle qui résulterait du titrage de l'acidité extérieure à la phtaléine. L'acidité extérieure, toujours faible, peut et doit être connue avec exactitude en la titrant au rouge de phénol. L'acidité constitutionnelle comme l'acidité totale, représentées par des chiffres beaucoup plus élevés, peuvent supporter une légère erreur absolue. C'est donc en connaissance de cause que nous acceptons, jusqu'à plus ample informé, cette petite irrégularité.

5° Acide lactique fixé à la caséine. — Ce n'est qu'exceptionnellement qu'on aura à se demander si le produit contient des lactates de caséines.

Nous ignorons jusqu'à présent quels inconvénients ces lactates pourraient entraîner dans l'utilisation de la caséine. Mais il est bon de savoir qu'une caséine en apparence parfaite (pas de cendres, acidité normale, etc.) peut contenir des radicaux étrangers à la caséine théorique dans le cas de précipitations trop acides. On peut avoir éventuellement à pousser les investigations dans ce sens.

On procédera alors comme il a été indiqué plus haut en effectuant un dosage des radicaux lactiques par la méthode Clausen appliquée aux solutions alcalines de caséine. *(A suivre.)*

RÉACTION DE SCHARDINGER. LAITS CRUS COLOSTRAUX ET CONTROLE HYGIÉNIQUE A LA CONSOMMATION

par

A. HOUDINIÈRE

Docteur-Vétérinaire, Inspecteur des denrées alimentaires de la ville de Nancy.

(Fin.)

VII. VÉRIFICATION DE L'HYPOTHÈSE RETENUE A L'EXPLOITATION PRODUCTRICE

Le lait demi-écrémé, objet de cette étude, est examiné à nouveau le lendemain, 4 novembre.

Parmi les laits des différents bidons mis en vente, un seul, provenant de la même exploitation que la veille, réagit négativement d'une façon identique au précédent. Ce lait présente exactement les mêmes caractéristiques, sauf, pour être exact, une petite variation dans sa catalase (1 cm³). Une enquête officieuse est alors entreprise à la ferme productrice. En voici les résultats :