

d'autre prétention que de montrer les aspects principaux du phénomène de la coagulation du lait par la présure.

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

S. HERSCHDØERFER

Ingénieur-Chimiste I. C. R.

Docteur ès sciences (Vienne)

des Laboratoires des « Fermiers Réunis »

(Fin.)

Le but que nous nous sommes proposé dans cette étude est l'appréciation de la qualité des caséines lactiques.

Dans notre premier article nous avons montré que tous les accidents possibles dans la fabrication de ces produits pouvaient se traduire sur le plan analytique par l'apparition dans la caséine :

1° de protéines dégradées ;

2° d'éléments étrangers minéraux ou organiques *fixés chimiquement* ;

3° d'éléments étrangers minéraux ou organiques simplement *mélangés* à la caséine.

Le contrôle analytique des caséines en vue du dépistage des accidents de fabrication devrait donc être capable de mettre en évidence ces divers éléments.

Quels sont ces éléments ?

1° Les diverses formes d'azote soluble provenant de la dégradation des protéines ;

2° Eléments étrangers organiques : acide lactique, lactose ;

a) Mélangés à la caséine : acide lactique extérieur, lactose ;

b) Fixés à la caséine : lactate de caséine ;

3° Eléments étrangers minéraux : les sels de calcium, les phosphates, etc ;

a) Mélangés à la caséine : lactates de chaux, phosphates de chaux, etc. ;

b) Fixés à la caséine : caséinate, phosphocaséinate de chaux, etc.

La détermination des formes d'azote soluble a été étudiée.

La détermination des éléments organiques étrangers l'a été également (acide lactique, acidité extérieure...). Nous avons volontairement laissé de côté le cas du lactose : nous avons constaté qu'il s'éliminait toujours totalement en moins d'une heure dans les macérations aqueuses où il est facile de le doser par un Bertrand.

Mais l'interprétation de sa présence (toujours très faible) ne tend qu'à conclure à de mauvais lavages. Or, nous avons de bien meilleurs moyens de conclure à l'insuffisance des lavages. Nous considérons donc ce dosage du lactose des macérations aqueuses comme parfaitement inutile dans le cas général.

Pour ce qui est des éléments minéraux (chaux et phosphates surtout), nous estimons que la discrimination des divers éléments est inutile, pratiquement, pour le but poursuivi ici.

Tous les éléments minéraux fixés à la caséine (c'est-à-dire non éliminables par lavages) correspondent à des produits insuffisamment déminéralisés.

Tous les éléments minéraux mélangés à la caséine et éliminables par lavages ou macérations correspondent à des produits insuffisamment lavés.

La somme de ces éléments est donnée par la détermination des cendres sur la caséine elle-même à condition que ce dosage soit effectué correctement. (Méthode Shaw modifiée que nous avons préconisée. *Le Lait*, novembre 1933.)

Les éléments minéraux solubles se déterminent très aisément par calcination du résidu d'évaporation des macérations aqueuses sans précautions spéciales, en opérant sur un volume d'autant plus grand que la caséine est plus pure.

Enfin, les éléments minéraux insolubles ou fixés chimiquement à la molécule se déterminent par différence entre les deux dosages précédents.

Cette série de techniques, jointe aux techniques habituelles de l'analyse courante (matière grasse, humidité...), constitue un ensemble qui permet, selon nous, de porter des conclusions plus précises et plus certaines sur la nature des produits soumis à l'analyse.

En outre, la connaissance de ces anomalies de constitution qui jusqu'alors échappaient à l'examen des chimistes, permet, dans un grand nombre de cas, de découvrir, dans la fabrication de la caséine, les erreurs ou accidents qui en sont la cause.

* * *

Ce dernier article aura donc un double objet :

1^o Rassembler les techniques que nous avons préconisées pour un examen chimique plus approfondi des caséines lactiques ;

2° Montrer l'usage qui peut être fait des données fournies par ces techniques dans l'interprétation de la qualité des produits.

* * *

PREMIÈRE PARTIE : TECHNIQUES ANALYTIQUES

L'analyse chimique complète d'une caséine lactique doit, à notre avis, et en l'état actuel de nos connaissances théoriques et techniques, comporter les déterminations suivantes :

- 1° Humidité ;
- 2° Matière grasse totale ;
- 3° Matières azotées totales ;
- 4° Azote de la caséine pure ;
- 5° Matières minérales totales ;
- 6° Acidité totale.

Puis sur des macérations aqueuses :

- 7° Matières azotées solubles avec discrimination de quelques formes d'azote ;
- 8° Acidité extérieure et acidité constitutionnelle ;
- 9° Acide lactique et lactates solubles ;
- 10° Matières minérales solubles.

Enfin, éventuellement, sur la *solution sodique* : radicaux lactiques fixés à la molécule protéique (lactates de caséine).

I. Humidité. — Dosage sur 5 gr. de la perte de poids à 100-102° à l'étuve. Aucune durée ne peut être fixée ; elle dépend du degré de finesse. Il faut aller à poids constant, ou mieux à *poids minimum*, car il se produit parfois avec certaines caséines mal lavées une reprise de poids à l'étuve, par suite de fixation d'oxygène sur la matière (comme dans le cas de certains charbons).

On notera toujours le changement de coloration éventuel et l'apparition de grains jaunes ou rouges.

II. Matière grasse totale. — La méthode la plus simple et surtout la plus sûre est celle qui dérive du procédé Gerber.

Nous en avons donné les raisons dans l'étude systématique que nous avons faite de cette méthode (*Le Lait*, n° 117, juillet-août 1932). On se reportera à notre article pour la technique détaillée, qu'il est inutile de rappeler ici.

Notons que nous effectuons des contrôles industriels *par milliers* chaque année en utilisant cette technique, qui nous rend les plus grands services et que nous n'avons jamais trouvée en défaut. L'usage du butyromètre spécial que nous avons créé est bien entendu indispensable. Le même appareil permet également le contrôle très exact des laits écrémés avec une précision de l'ordre de 0 gr. 1 par litre.

III. Matières azotées totales. — Méthode de Kjeldahl classique avec sulfate de cuivre comme catalyseur : 2 gr. de caséine sont attaqués par 25 cm³ d'acide sulfurique à 66° Bé en présence de 10 gr. de sulfate de potasse, pour élever le point d'ébullition de l'acide, et de 1 gr. 5 de sulfate de cuivre cristallisé. L'ébullition est prolongée une demi-heure après *décoloration complète*. On distille en présence d'un excès de soude et d'un peu de zinc dans les conditions classiques.

Le sulfate de cuivre doit être préféré au mercure comme catalyseur. Il va de soi que, lors de la distillation, on n'a pas à introduire de sulfure de sodium ou d'hypophosphite de soude, puisque le cuivre n'a pas fourni de combinaison azotée, comme c'est le cas dans l'attaque au mercure.

On passe du taux d'azote trouvé au taux de protéines totales en utilisant le coefficient 6,39, *seul exact dans le cas de la caséine*.

IV. Dosage de la caséine pure. — Les matières azotées totales ne représentent pas toujours de la caséine pure insoluble. Il nous paraît indispensable de doser la *caséine pure*, contenue dans la caséine industrielle soumise à l'essai. On procédera comme nous l'avons indiqué (*Le Lait*, n° 134, avril 1934).

V. Matières minérales totales. — La calcination pure et simple est une erreur. Nous l'avons démontré (*Le Lait*, n° 129, novembre 1933). C'est la méthode Shaw qui doit être employée, en suivant la technique que nous avons donnée dans l'article cité.

Dans toutes les analyses de caséines que nous effectuons, les matières minérales sont dosées par cette méthode. Le dosage est très facilité (obtention rapide de cendres blanches) et beaucoup plus exact que dans la calcination classique.

Il faut bien noter que les chiffres ainsi obtenus sont beaucoup plus faibles que ceux auxquels la calcination classique nous a habitués, puisque cette calcination retient du phosphore organique (*incomplètement d'ailleurs*) qui ne doit pas figurer dans les cendres. Une caséine pure théorique ne doit pas contenir de cendres. Une telle caséine à laquelle on a ajouté 2% de matières minérales donne 3,6% de cendres par la calcination ordinaire, parce que le P₂O₅ organique (1,6%) est fixé. Entre ces deux extrêmes la calcination classique fournit toute une gamme d'erreurs, comprises entre 0 et 1,6%, erreurs variables et imprévisibles, d'autant plus importantes que la caséine est moins bien lavée. Il convient donc de s'habituer aux nouveaux chiffres de la méthode Shaw, qui sont les *chiffres réels* correspondant aux matières minérales *vraies* ne devant pas faire partie de la caséine lactique.

Remarque. — Cette technique ne concerne évidemment que

les caséines lactiques. Dans le cas des caséines-présure où la méthode Shaw se trouve automatiquement réalisée, la calcination pure et simple donne de bons résultats.

VI. Acidité totale. — La technique de titrage en retour, devenue classique, est à conseiller malgré ses imperfections. On pourra utiliser le mode opératoire que nous avons adopté (*Le Lait*, n° 136, juin 1934).

VII. Matières azotées solubles. — Nous attachons à cette détermination une importance capitale dans l'appréciation de la qualité des caséines. La technique que nous avons fixée (*Le Lait*, n° 133, mars 1934) est d'une application extrêmement facile.

Notons que la somme caséine pure (voir § IV ci-dessus) plus matières azotées solubles ne redonne pas nécessairement le chiffre des matières azotées totales dosées directement, car il peut exister d'autres formes d'azote n'appartenant pas à la caséine pure, quoique insolubles dans l'eau. Il est donc intéressant de doser directement les matières azotées solubles dans l'eau.

Dans quelques cas (caséines très altérées), on pourra être amené à faire une étude plus complète des diverses formes d'azote dégradé (dosage de l'azote ammoniacal, calcul des différentes formes d'azote) en utilisant les données de notre étude (*Le Lait*, avril 1934).

En fait, dans la pratique courante, il est rarement nécessaire de recourir à ces dernières déterminations et on pourra se contenter de : protéines totales, caséine pure, protéines solubles dans l'eau.

VIII. Acidité extérieure et acidité constitutionnelle. — Il est tout à fait important de distinguer dans l'acidité des caséines la part qui revient aux protéines et la part qui revient à l'acidité soluble non éliminée par suite de lavages insuffisants.

Le dosage de l'acidité soluble ne présente aucune difficulté et s'effectue sur des macérations aqueuses ainsi que nous l'avons indiqué (*Le Lait*, juin 1934).

L'acidité constitutionnelle représentant l'acidité insoluble de la molécule protéique se détermine par différence entre l'acidité totale et l'acidité extérieure.

IX. Acide lactique et lactates solubles. — L'acidité soluble n'est pas toujours exclusivement constituée par de l'acide lactique (sels acides, protéines dissoutes).

D'autre part, l'acide lactique, *qui doit être absent*, peut ne pas apparaître au titrage acidimétrique s'il est à l'état de lactate de calcium.

Done, si l'on veut se rendre compte de l'abondance des radicaux lactiques éventuellement présents (et qui doivent être nuls), il est

nécessaire de les doser directement et spécifiquement par la méthode que nous avons donnée (*Le Lait*, mai et juin 1934).

X. Matières minérales solubles. — L'examen des macérations aqueuses des caséines sera utilement complété pour l'interprétation, par le dosage de l'extrait sec de ces macérations et surtout par celui des cendres de cet extrait.

L'extrait sec lui-même ne sera que la somme des éléments solubles déjà dosés séparément (protéines solubles, acide lactique et lactates solubles) et de certains éléments solubles non dosés (lactose).

Les cendres de l'extrait sont *indispensables à connaître* pour l'interprétation et présentent beaucoup d'importance. Ces dosages ne présentent aucune difficulté : l'extrait sec se fera par l'évaporation au bain-marie d'un assez grand volume de la macération de 3 jours qui a servi à doser l'azote soluble. Le volume à prélever peut varier suivant l'état de la caséine ; nous le prenons ordinairement égal à 100 cm³, c'est-à-dire correspondant à 5 ou 10 gr. de caséine, suivant le rapport $\frac{\text{caséine}}{\text{eau}}$, dans la macération.

Les cendres de l'extrait se font par calcination pure et simple. (Dans le cas actuel, tout le phosphore soluble doit être dosé, car sa présence est anormale ; et on n'a pas à redouter des pertes par calcination, car il y a assez de matières minérales pour le fixer malgré la présence de matière organique. Il n'y a donc pas à faire appel à la méthode Shaw.)

Remarque. — Le dosage des radicaux lactiques fixés à la caséine (jouant le rôle de base) peut être intéressant dans certains cas de caséines précipitées trop en dessous de leur point isoélectrique. Mais ce dosage assez délicat (*Le Lait*, juin 1934) n'est pas absolument indispensable pour l'interprétation et pourra être négligé dans la pratique du contrôle courant.

* * *

DEUXIÈME PARTIE : INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS DE L'ANALYSE

Nous allons passer rapidement en revue la signification que nous attachons à chacun des éléments déterminés par l'analyse et dire à quelles anomalies de fabrication peut correspondre l'apparition ou la variation de tel ou tel élément.

Comme confirmation pratique, nous montrerons en même temps, sur quelques exemples d'accidents de fabrication réalisés volontairement, comment ces anomalies de fabrication influencent la composition chimique des caséines.

1^o Nous ne dirons rien de l'**humidité**, ni de la **matière grasse**, dont l'interprétation est facile... Rappelons seulement qu'une caséine industrielle est considérée comme anormale si son humidité dépasse 12%. La grande majorité des caséines qui sont analysées journellement dans nos laboratoires ont des teneurs qui oscillent entre 10 et 12%.

Pour la matière grasse, on accepte généralement des teneurs allant jusqu'à 2%. Des chiffres plus élevés sont considérés comme mauvais ou très mauvais. Mais il est courant de rencontrer des caséines qui titrent moins de 2% de matière grasse et des produits réalisés avec des laits parfaitement écrémés arrivent à ne renfermer que 1% de matière grasse, voire même moins. Un calcul simple montre qu'un lait qui renferme 0 gr. 5 de matière grasse conduit à une caséine titrant environ 1,5%. Ces conditions de travail représentent un degré de perfection moyenne fréquemment réalisé à l'heure actuelle.

2^o Matière azotée totale. — La valeur absolue de tous les éléments d'une caséine est évidemment fonction de son humidité. Il faut donc juger d'une manière relative, et tenir compte à la fois de tous les éléments.

Notons toutefois qu'une bonne caséine lactique normale présente un taux de matières azotées totales compris entre 82 et 85% pour une humidité de 10 à 12%. Dans les mêmes conditions, un chiffre de protéines inférieur à 80% représente une caséine certainement chargée par ailleurs d'éléments indésirables (matières minérales, matière grasse).

En particulier, de mauvais lavages entraînent une chute marquée de l'azote total, ainsi qu'on peut s'en rendre compte par les chiffres suivants (protéines totales calculées sur produits à 10% d'eau) :

N ^{os} des caséines	1	2	3	4
Caillebotte lavée à fond	85,08	83,52	83,07	82,95
Caillebotte soumise à un seul lavage imparfait	80,11	77,88	79,47	76,95

Les écarts (de 3,6 à 6,0%) correspondent à la présence d'éléments étrangers non enlevés par le lavage imparfait.

Mais il faut noter que des chiffres normaux (ou supérieurs à 85% dans le cas de caséines très sèches) peuvent correspondre à des produits altérés. Le dosage de l'azote total, en effet, ne renseigne pas sur la structure actuelle des matières azotées. Ce sont les autres éléments qui nous renseigneront.

3^o Caséine pure. — C'est là un des éléments fondamentaux. Dans une caséine normale, ce chiffre doit être aussi voisin que

possible du taux d'azote total (calculés l'un et l'autre à l'aide du coefficient 6,39).

Quand le chiffre de caséine pure est nettement inférieur aux protéines totales, on a affaire à une caséine dégradée plus ou moins solubilisée par une fermentation anormale du lait ou de la caillebotte.

Il faut admettre que dans une bonne caséine courante, on peut avoir un écart normal de 2 à 3% entre ces deux chiffres sans devoir invoquer une altération réelle. Si l'écart excède nettement cette marge, il y a lieu de suspecter le produit. Une caséine provenant d'une caillebotte légèrement fermentée donne des écarts atteignant 10, 15% et plus entre ces chiffres. La confirmation sera d'ailleurs donnée par le dosage direct de l'azote dégradé soluble.

4° Matières minérales totales. — Principe général : Ce chiffre doit être aussi bas que possible.

La caséine est d'autant plus parfaite que les cendres sont plus voisines de zéro. On admet pour des caséines courantes réputées bonnes, des chiffres de l'ordre de 0,5% (méthode Shaw). Par la méthode de calcination classique, on accepte généralement jusqu'à 2% ; mais ce chiffre est difficile à interpréter, car il correspond à la fois à une fixation de phosphore organique et à une perte partielle de ce dernier. Nous avons pu trouver entre deux caséines titrant le même chiffre par la méthode de calcination pure et simple, des teneurs très différentes de cendres réelles, correspondant à des produits de valeur très inégales.

(Nous souhaitons donc qu'on perde l'habitude de se contenter de la calcination pure et simple des caséines lactiques.)

En cendres réelles, par la méthode proposée, des teneurs de 0,5-0,6 doivent constituer des maxima dans la pratique courante. On peut faire mieux, et nous trouvons des caséines très bien préparées qui titrent 0,4 et même 0,2.

Que signifie une teneur en cendres trop élevée ?

Il y a deux interprétations possibles, entre lesquelles l'examen des autres éléments permettra de trancher : ou bien caséine insuffisamment déminéralisée, c'est-à-dire *précipitée prématurément* par une fermentation lactique conduite à une température trop haute ou par le chauffage du lait acide non encore caillé ; ou bien caséine bien déminéralisée mais insuffisamment lavée.

Exemples :

Caséine précipitée dans de bonnes conditions	
d'acidité, lavée à fond	0,41 de cendres pour cent
La même caséine soumise à un lavage imparfait ..	1,36 " "

Caséine précipitée par chauffage de lait acide, <i>insuffisamment déminéralisée</i> , mais lavée à fond	1,33 de cendres pour cent
La même soumise à un lavage imparfait	1,83 » »

Toutes ces caséines, préparées le même jour, proviennent du même lait. Les chiffres des deuxième et troisième lignes sont très voisins et correspondent à des accidents de fabrication très différents.

Donc, quand les cendres sont faibles (0,4-0,5%), on a affaire à un bon produit. Si le chiffre est très supérieur à cette moyenne, on a un produit anormal, mais la détermination de l'anomalie exigera la connaissance de la composition des macérations aqueuses.

Il faut évidemment rappeler que dans le cas de caséines parfaitement lavées le taux de matières minérales est d'autant plus faible que la précipitation a été poussée jusqu'à une plus haute acidité, ainsi que nous l'avons déjà montré (*Le Lait*, novembre 1933).

5° Acidité totale. — L'interprétation de l'acidité ne doit jamais porter sur l'acidité *totale*, qui représente la somme de *deux variables*. Ce qu'il importera de connaître et de juger séparément, c'est l'acidité extérieure et l'acidité constitutionnelle. Donc, l'acidité totale n'est qu'un élément de calcul, dont la détermination est nécessaire, mais qui ne doit pas entrer en ligne de compte dans le jugement du produit.

Il est facile de se rendre compte de l'impossibilité de cette interprétation.

Une caséine très acide peut être ou bien précipitée dans de bonnes conditions et mal lavée ou bien précipitée trop acide et bien lavée.

Une caséine peut être normale comme acidité totale et avoir cependant deux défauts simultanés : insuffisamment déminéralisée (acidité constitutionnelle trop faible) et mal lavée (acidité extérieure notable) ; la somme de ces deux influences inverses peut conduire à un chiffre acceptable. L'interprétation ne peut pas avoir lieu.

Exemples :

Caséine précipitée à forte acidité et lavée à fond	8,0 % d'acidité totale
Caséine précipitée à une acidité trop basse, insuffi- samment déminéralisée, mais mal lavée	7,80 % » »
La même lavée à fond	6,80 % » »

Les deux premiers chiffres, très voisins, correspondent cependant à des produits très différents.

C'est l'étude des macérations aqueuses qui nous renseignera de façon utile.

6° Matières azotées solubles. — Les caséines les plus pures abandonnent toujours à l'eau une petite quantité d'azote soluble, de l'ordre de 0,1 à 0,2% du produit total.

Au-dessus de ces teneurs, on a affaire à des caséines provenant de lait ou de caillebotte ayant subi une fermentation putride plus ou moins prononcée.

Nous avons rencontré des caséines titrant, par exemple, 1, 2... et jusqu'à 7% d'azote soluble, qui provenaient de caillebottes fermentées ou pourries. Dans certains cas, l'aspect de la caséine sèche était resté normal et la teneur en azote total ne permettait pas de soupçonner l'anomalie grave.

Nous n'avons jamais pu rattacher une élévation du taux d'azote soluble à d'autres accidents de fabrication que la fermentation putride. De mauvaises précipitations (à des acidités très hautes ou très faibles), de mauvaises cuissons, ne donnent pas d'élévation du taux d'azote soluble.

Il ne faut pas davantage rattacher un taux d'azote soluble très élevé à un mauvais lavage, car l'azote soluble prend très généralement naissance après la fabrication, dans la caillebotte même. Un mauvais lavage, par lui-même, ne laisse pas d'azote soluble, puisqu'il n'a pas encore pu s'en former.

Nous sommes donc en présence d'un élément très caractéristique d'un accident précis, et d'un seul : la fermentation putride de la caillebotte avant séchage ; et nous pourrions porter cette conclusion à coup sûr si la teneur en azote soluble excède quelques dixièmes pour cent de la caséine. En revanche, si l'azote soluble est très faible (de l'ordre de 0,2% ou moins), beaucoup d'autres accidents de fabrication restent possibles qui n'influencent pas cet élément.

Remarque. — L'examen des autres formes d'azote soluble, en particulier azote ammoniacal, azote des caséinates, permettra de se faire une idée du degré d'altération de la caillebotte initiale. Mais pour l'appréciation simplement qualitative de cette anomalie, la détermination de l'azote soluble global suffit et, dans la pratique courante, nous nous en contentons.

7° Acidité extérieure ; acide lactique et lactates solubles.

— L'acidité extérieure (ou soluble) d'une caséine lactique normale bien lavée devrait être nulle. Pratiquement, il y a toujours une petite acidité, comme il y a toujours un peu d'azote soluble.

Cette acidité est de l'ordre de 0,1 à 0,2% (rarement plus), exprimée en acide lactique, *quel que soit le mode de préparation de la caillebotte et les accidents qui ont pu survenir.*

Autrement dit, une caillebotte précipitée à une acidité trop faible ou bien, au contraire, très élevée, cuite à des températures quelconques entre 40° et 100°, mais, dans tous les cas, *lavée à fond,*

n'abandonne aux macérations aqueuses que des acidités solubles très faibles et inférieures à 0,2%.

En revanche, une caséine provenant d'une caillebotte *mal lavée* abandonnera d'autant plus d'acidité aux macérations qu'elle aura été moins bien lavée, et, à égalité de lavage, elle abandonnera d'autant plus d'acidité que l'acidité atteinte lors de la précipitation de la caillebotte était elle-même plus élevée. Cela se conçoit, si on songe que plus la précipitation a été acide, plus le liquide qui baignait la caillebotte était acide. Le lavage n'ayant pas tout enlevé, la caillebotte conserve une quantité d'acidité soluble proportionnelle à ce chiffre.

Exemples (nous donnons l'acidité extérieure pour cent de caséine sèche et aussi les radicaux lactiques solubles selon Clausen) :

	Caillebotte lavée à fond		Caillebotte insuffisamment lavée	
	Acidité	Clausen	Acidité	Clausen
Précipitation par chauffage de lait peu acide.....	0,05	0,07	0,19	0,20
Précipitation à une acidité normale	0,10	0,12	0,37	0,88
Précipitation à une acidité normale	0,10	0,07	0,51	0,88
Caillebotte hyperacide avant cuisson	0,16	0,24	0,90	1,41

Donc, une acidité soluble élevée indique toujours un mauvais lavage ; mais il serait imprudent de vouloir en tirer argument quant au mode de précipitation (acidité acquise avant cuisson), car on ne connaît jamais le degré d'insuffisance du lavage. C'est l'acidité constitutionnelle qui va nous renseigner sur la marche de l'acidification de la caillebotte.

Que donne, parallèlement, l'examen des radicaux lactiques solubles, obtenus par la méthode Clausen ? Le tableau ci-dessus nous montre que dans le cas d'une caséine bien lavée, il n'y a pratiquement pas de différence entre l'acidité dosée acidimétriquement et l'acide lactique dosé directement, quelles que soient les conditions de la précipitation. Dans le cas de caillebottes mal lavées, le dosage des radicaux lactiques donne des chiffres de plus en plus élevés au fur et à mesure qu'augmente l'acidité lors de la précipitation.

Cela signifie que dans les caséines bien lavées, l'acidité soluble n'est constituée que d'acide lactique libre, et dans le cas de caséines mal lavées, il reste à côté de l'acide lactique libre, qui constitue l'acidité vraie, une quantité non négligeable de lactates solubles et neutres.

On conçoit d'ailleurs que cet excès de radicaux lactiques combinés solubles soit plus grand dans le cas d'une précipitation très acide, car la déminéralisation s'effectue sous l'influence de l'acide lactique, qui se transforme partiellement en lactates (de chaux surtout), et le sérum en contient d'autant plus que la déminéralisation a été plus active. De bons lavages font disparaître cette différence, mais de mauvais lavages la font très bien sentir.

Au point de vue pratique, des acidités titrables et des Clausen très faibles (et identiques entre eux) peuvent avoir des significations très différentes, et, comme nous l'avons dit ci-dessus, c'est l'acidité constitutionnelle qui tranchera. Mais des acidités titrables et des Clausen très supérieurs à 0,2 % indiquent de mauvais lavages, et l'écart entre ces deux chiffres peut renseigner sur l'allure de l'acidification initiale.

Notons encore que le degré de cuisson est sans influence sur les acidités solubles et les radicaux lactiques solubles (dans le cas de caséines bien lavées).

	Acidité	Clausen
Cuisson à 50°	0,14	0,20
Cuisson à 70°	0,09	0,09
Cuisson à 100°	0,12	0,16

Il faut considérer ces chiffres (tous inférieurs à 0,2) comme pratiquement identiques entre eux, c'est-à-dire non influencés par la température de cuisson.

8° Acidité constitutionnelle. — La différence entre l'acidité totale et l'acidité extérieure fournit un élément d'appréciation des plus intéressants.

L'acidité constitutionnelle croît avec le degré d'acidité initiale de la caillebotte avant la cuisson, comme on pouvait s'y attendre, par suite de la décalcification plus complète du phosphocaséinate de chaux.

Mais nous avons fait deux remarques très curieuses :

a) *L'acidité constitutionnelle* d'une caillebotte mal lavée est toujours plus élevée que l'acidité constitutionnelle de la même caillebotte lavée à fond. En voici quelques preuves (acidités constitutionnelles exprimées conventionnellement en acide lactique pour cent de caséine à 10% d'humidité) :

	Caillebotte lavée à fond	Caillebotte soumise à un seul mauvais lavage
Précipitation par chauffage de lait peu acide	6,75	7,61
Précipitation à une acidité normale	7,00	7,43
Caillebotte hyperacide avant cuisson	8,34	8,90

Il ne s'agit pas ici de l'acidité laissée par le mauvais lavage, puisque cette acidité, soluble (extérieure), a été retranchée. On ne peut pas non plus invoquer une déminéralisation de la caséine par l'acide lactique extérieur dans nos macérations, car cette acidité extérieure aurait diminué dans les produits mal lavés, alors que c'est le contraire qui a lieu. On ne pourrait qu'invoquer un complément de déminéralisation de la caillebotte fabriquée, pendant le pressage et avant le séchage, sous l'influence d'une quantité d'acide lactique assez notable laissée dans la caillebotte par le mauvais lavage. Cette déminéralisation tardive ne peut apparaître dans les cendres, puisque les produits qui en résultent ne sont plus éliminés, mais séchés avec la caillebotte. Les cendres des macérations aqueuses ne renseignent pas non plus, car elles ne permettent pas de distinguer entre les sels minéraux laissés par un mauvais lavage et ceux qui auraient pu se former ensuite dans la caillebotte par réaction au sein de la masse.

Ce complément de déminéralisation après la fabrication n'est qu'une hypothèse, difficile à vérifier, mais qui mériterait à elle seule une étude complémentaire. Si elle était exacte, elle serait grosse de conséquences, car elle tendrait à prouver que dans certains cas (précipitation très peu acide), on aurait avantage à ne pas laver la caillebotte à fond, à ne pas le sécher immédiatement, pourvu que le lavage complet ait lieu un peu plus tard, immédiatement avant le séchage (application au cas des caillebottes transportées et séchées loin du lieu de production).

Pour le moment, il faut se contenter d'enregistrer le fait, en attendant des études complémentaires sur ce point.

b) Un autre fait digne de remarque est le suivant :

L'acidité constitutionnelle paraît d'autant plus élevée que la température de cuisson est plus faible. Exemples :

	1	2
Cuisson à 37	8,96	—
Cuisson à 50	—	8,36
Cuisson à 70	7,51	—
Cuisson à 100	—	7,88

Nous n'avons pas d'explication suffisamment acceptable de ce fait pour que nous ayons le désir d'insister. Il devra être repris également, car, s'il se confirme, il pourrait en découler des applications intéressantes pour la fabrication de la caillebotte.

Au point de vue pratique, contentons-nous de retenir de tout ceci, que l'acidité constitutionnelle est fonction de l'acidité de caillé au moment de la cuisson ; qu'une acidité élevée peut provenir soit d'hyperacidité au moment de la cuisson, ou d'une cuisson à température assez basse, ou de mauvais lavages ; qu'une acidité trop faible est en revanche caractéristique à peu près exclusivement d'une fermentation lactique insuffisamment poussée.

Une question se pose maintenant : quelle acidité constitutionnelle faut-il tenir pour convenable dans une caséine lactique ?

Hâtons-nous de dire que cette question est la plus grande inconnue de l'utilisation industrielle des caséines, pour la raison suivante : certaines industries obtiennent incontestablement de bons résultats avec des caséines dont l'acidité constitutionnelle ne convient pas à d'autres (toutes choses égales d'ailleurs).

Nous avons pu obtenir, à *égalité de pauvreté en cendres*, des caséines dont l'acidité constitutionnelle était différente (en laissant la fermentation lactique se poursuivre pendant des temps différents au delà d'un certain minimum). Les résultats obtenus dans certaines applications (colles, papier couché...) sont différents entre eux et il semble actuellement difficile, sinon impossible, de créer une qualité-standard susceptible de convenir à tous les usages. L'explication de ces faits est actuellement inconnue ; mais le seul fait de leur existence commande d'être très prudent dans la fixation du taux d'acidité constitutionnelle à exiger.

D'une manière générale, *il semble* toutefois qu'on ait intérêt à s'adresser à des caséines bien lavées dont l'acidité constitutionnelle soit plutôt élevée, ce qui indique, à la fois, certitude de la déminéralisation (utile à tout le monde) et peut-être aussi, plus grande aptitude à réagir chimiquement.

[On pourrait discuter longuement sur l'arrangement intime des chaînes peptidiques dans la molécule de caséine libre, sur l'ouverture possible des noyaux cyclopeptidiques au cours d'une fermentation exagérée, donnant naissance à un plus grand nombre de chaînes linéaires et peut-être aussi à un plus grand nombre de radicaux acides. Une hypothèse de cet ordre pourrait se soutenir, mais la discussion n'aurait pas sa place ici, car elle intéresserait d'abord la biochimie de la fermentation lactique avant de venir se placer dans le cadre de l'étude industrielle de la caséine.]

Dans l'état actuel de nos connaissances et pour rester dans le plan que nous nous sommes tracé au début de cette étude, disons

seulement : qu'une acidité extérieure doit toujours être aussi faible que possible (sinon : indice de mauvais lavage) ; qu'une acidité constitutionnelle doit être au moins égale à un certain minimum, correspondant à la déminéralisation complète du caséinate de départ. Ce minimum peut raisonnablement être choisi voisin de 7,5, pour une caséine à 10% d'eau, sans qu'on doive à priori porter un jugement défavorable sur des caséines d'acidité *constitutionnelle* plus élevée.

Les industriels se doivent de discerner, dans chaque cas particulier, si leur industrie exige des acidités égales ou supérieures au minimum, étant entendu que la caséine essayée est parfaite par ailleurs.

9° Extrait sec et cendres des macérations aqueuses. — L'extrait sec des macérations aqueuses représente la totalité des matières solubles de la caséine (matières azotées solubles, acide lactique, lactose, sels minéraux).

Cet extrait, dans le cas de caséines théoriques bien lavées, devrait être nul. En fait, dans la pratique courante, sur des produits de très bonne qualité, il est généralement compris entre 1 et 1,5% de la caséine totale.

Les accidents de fabrication influencent cette donnée dans la mesure où ils agissent sur les divers éléments dont elle est constituée. Il est clair que la connaissance de l'extrait sec ne permet pas à elle seule de découvrir un accident de fabrication déterminé, sauf dans le cas des mauvais lavages, qui élèvent d'une façon très notable cette valeur. Des caséines bien fabriquées mais insuffisamment lavées donnent couramment des extraits secs de macération de l'ordre de 4% de la caséine totale et même plus (nous avons eu 8%).

On peut donc dire, en présence d'un extrait sec de macération supérieur à 1,5% du produit, qu'on a affaire à une caséine anormale et presque toujours mal ou très mal lavée, suivant l'importance du chiffre obtenu.

La connaissance des cendres *de cet extrait*, c'est-à-dire des *matières minérales solubles*, permet de pousser plus loin l'interprétation, et cela d'une manière très intéressante.

Les cendres de macération aqueuse de caséines normales bien fabriquées et bien lavées n'excèdent pas 0,2 à 0,3% de la caséine totale.

Il est remarquable de constater que des modifications très importantes dans l'acidité initiale du lait ou de la caillebotte lors de la précipitation ou de la cuisson, n'ont pas de répercussion appréciable sur la teneur en cendres des macérations aqueuses pourvu que les lavages aient été poussés à fond.

En revanche, l'influence de mauvais lavages est manifeste,

comme il était facile de le prévoir. Exemples (cendres des extraits pour cent de caséine initiale) :

	1	2	3	4
Caséines lavées à fond	0,29	0,21	0,11	0,27
Caséines mal lavées	0,69	1,06	0,59	1,45

Il nous reste enfin à faire l'importante comparaison entre les matières minérales totales de la caséine et les matières minérales des macérations aqueuses.

Cette comparaison, avons-nous déjà dit, va nous permettre de trancher l'incertitude qui règne sur l'interprétation à donner d'un chiffre élevé de matières minérales totales.

Une caséine industrielle de bonne qualité doit avoir un taux de matières minérales totales inférieur à 0,5%, avec une teneur en matières minérales solubles inférieure à 0,2 ou 0,3%.

Si les cendres totales excèdent nettement 0,5%, il y a lieu de distinguer deux cas :

a) *Les cendres solubles sont faibles* (inférieures à 0,3%). Donc, la caséine a été parfaitement lavée. Elle n'est plus capable de céder des sels minéraux à une macération prolongée. Donc, sa haute teneur en cendres totales provient de la présence, dans la molécule, de combinaisons minérales insolubles dans l'eau correspondant à une *déminéralisation insuffisante* du complexe initial.

Exemples :

	Cendres totales	Cendres solubles	Cendres insolubles
Caséines bien décalcifiées	0,22	0,11	0,11
Caséines bien décalcifiées	0,41	0,21	0,20
Caséines provenant d'une caillebotte précipitée par chauffage de lait acide	0,65	0,29	0,36
Caséines provenant d'une caillebotte précipitée par chauffage de lait <i>très peu acide</i>	1,33	0,27	10,6

Ces chiffres confirment parfaitement l'explication que nous venons de donner ; et des cendres totales élevées (supérieures à 0,5-0,6%) avec des cendres solubles faibles (inférieures à 0,3%) correspondent à une caséine bien lavée mais provenant d'une caillebotte insuffisamment déminéralisée.

b) Avec des cendres totales élevées (très supérieures à 0,5%), on a des *cendres solubles également très élevées*.

Donc, le produit abandonne à l'eau beaucoup de matières minérales. *A coup sûr, il a été mal lavé.*

Mais comment discerner s'il provient d'une caillebotte précipitée à une acidité normale, ou, au contraire, d'une caillebotte insuffisamment déminéralisée ?

Une caillebotte bien déminéralisée ne doit pas contenir de matières minérales insolubles. Si elle a un taux de cendres totales élevé, c'est qu'elle est mal lavée, et les cendres de l'extrait aqueux (cendres solubles) doivent reproduire à peu près les cendres totales.

Les cendres insolubles (différence entre cendres totales et cendres solubles) doivent être très faibles.

Une caillebotte mal déminéralisée et mal lavée doit, au contraire, avoir des cendres totales très élevées, des cendres solubles (1) élevées (puisque mal lavée) et aussi des cendres insolubles élevées.

Nous pourrions donc dresser un tableau des combinaisons possibles ainsi conçu :

A. *Cendres totales faibles* ($< 0,5\%$) signifient toujours caséine bien déminéralisée et bien lavée. (Dans ce cas, les cendres solubles et insolubles sont également très faibles.)

B. *Cendres totales élevées* (nettement supérieures à $0,5\%$) avec :

1^o *Cendres solubles faibles* ($< 0,2-0,3\%$) : il s'agit d'une caséine provenant d'une caillebotte mal déminéralisée, mais bien lavée. (Les cendres insolubles sont évidemment élevées.)

2^o *Cendres solubles élevées* (très supérieures à $0,3\%$). Deux cas à considérer :

α) *Cendres insolubles faibles* : caséine normale, bien précipitée, mais mal lavée (pas de matières minérales fixées dans la molécule protéique).

β) *Cendres insolubles élevées* : caséine insuffisamment déminéralisée et mal lavée.

Ce tableau n'a rien d'artificiel ; il correspond parfaitement à ce qui se passe dans la pratique et il permet des conclusions intéressantes si on a soin de comparer attentivement les chiffres des diverses formes de matières minérales pour une caséine donnée.

Exemples :

	Cendres totales	Cendres solubles	Cendres insolubles
Précipitation normale, bons lavages	0,41	0,21	0,20
Précipitation hypoacide, bons lavages	1,33	0,27	1,06
Précipitation normale, mauvais lavage	1,36	1,06	0,30
Précipitation hypoacide, mauvais lavage	1,29	0,69	0,60

La comparaison des cendres totales et des cendres de la macération aqueuse est donc des plus utiles dans l'appréciation de la qualité de la caséine.

(1) Il est bien entendu que par « cendres solubles », nous entendons toujours ici les cendres de l'extrait aqueux ou cendres de la partie soluble de la caséine, et non pas la partie soluble des cendres totales de la caséine.

Les hypothèses qu'elle permet d'échafauder se trouvent d'ailleurs confirmées par les déductions issues de l'examen des autres éléments dosés, et l'étude d'ensemble de l'analyse détaillée permet d'aboutir à des conclusions utiles concernant les causes des anomalies de composition constatées.

Remarque. — De grandes différences dans la température de cuisson (à égalité d'acidité acquise avant la cuisson) n'influencent que d'une manière insignifiante les teneurs en matières minérales totales, solubles ou insolubles. Exemple :

	Cendres totales	Cendres solubles	Cendres insolubles
Cuisson à 37°	0,44	0,22	0,22
Cuisson à 50°	0,40	0,17	0,23
Cuisson à 70°	0,47	0,23	0,24
Cuisson à 100°	0,51	0,29	0,22

10° Radicaux lactiques totaux sur les solutions sodiques de caséine. — Nous avons effleuré cette question dans notre précédent article.

Cette détermination, qui n'est pas absolument indispensable, permet, toutefois, de diagnostiquer les caséines provenant de caillebottes hyperacides, c'est-à-dire ayant séjourné en contact avec l'acide lactique pendant un temps supérieur à celui qui est nécessaire et suffisant pour entraîner une déminéralisation pratiquement complète.

Dans ce cas, la solution sodique de caséine contient une quantité de radicaux lactiques très supérieure à celle qui est fournie par la macération aqueuse. (On pourrait nous objecter qu'il s'agit de lactates métalliques insolubles, et non d'une combinaison de l'acide lactique et de la caséine ; nous répondrons d'abord qu'il n'en est rien, car la solubilité du lactate de calcium dans l'eau est très supérieure aux doses qui sont en jeu ici, et ensuite, nous dirons que ces combinaisons acide lactique-caséine, ou lactates de caséines, sont tout à fait conformes aux théories actuelles sur la constitution des protéines, comme nous l'avons montré dans notre dernier article.)

* * *

En résumé :

1. L'humidité d'une caséine lactique doit être aussi faible que possible, en tout cas inférieure à 12 %.

2. La matière grasse doit être également aussi faible que possible, et inférieure à 2 % d'une manière générale.

3. Les matières azotées totales doivent se tenir très près de 82-85 %

(en comptant 10 % d'eau dans la caséine). Mais ce chiffre ne permet pas à lui seul, de conclure à une caséine normale.

En tout cas, en dessous de 81-82 % de protéines (avec 10 % d'eau), on a affaire à une caséine anormale chargée d'éléments étrangers. Mais ce chiffre à lui seul, ne permet pas de dire quelle est la nature de l'anomalie.

4. La *caséine pure* doit être voisine des protéines totales. On peut accepter comme normale une teneur de 2 à 3 % inférieure au chiffre de protéines (soit 79 à 82 % avec 10 % d'eau).

Si le taux de caséine pure est notablement inférieur à 80 %, on a affaire à un produit *ayant fermenté*.

5. Les *matières azotées solubles* doivent être inférieures à 0,2 %. Mais une caséine mal lavée peut présenter ce chiffre.

Au-dessus de 0,2-0,3 %, il y a eu fermentation de la caillebotte.

Cette augmentation des matières azotées solubles est donc toujours corrélative d'une chute du taux de caséine pure, et elle ne signifie pas autre chose que : fermentation. C'est un caractère spécifique de cet accident. Il ne faut donc pas le rapporter à un mauvais lavage.

6. *L'acidité totale* ne peut pas être interprétée.

7. *L'acidité extérieure doit être inférieure à 0,2 % (en acide lactique).* Au-dessus de ce chiffre, on a affaire à de *mauvais lavages*, et c'est d'autant plus exact que l'acidité constitutionnelle est plus forte.

Les *radicaux lactiques* solubles (exprimés en acide lactique) doivent être aussi inférieurs à 0,2 %. S'il y a identité entre ce chiffre et le chiffre précédent, on a affaire à une caséine bien lavée. Plus l'écart est grand entre ces deux chiffres, plus il y a lieu de suspecter un mauvais lavage, et c'est d'autant plus exact que l'acidité constitutionnelle est plus élevée.

8. *L'acidité constitutionnelle* est difficile à préciser en l'état actuel de nos connaissances des nécessités industrielles.

Si la déminéralisation est suffisante (si les cendres totales sont inférieures à 0,5 %), le chiffre d'acidité constitutionnelle ne peut pas être critiqué.

Plus il est élevé, plus la fermentation lactique initiale a été poussée. S'il est bas (avec cendres < 0,5 %), la fermentation lactique a été suffisante, sans excès.

Mais si ce chiffre d'acidité constitutionnelle est nettement inférieur à 7,5 %, il correspond à une déminéralisation insuffisante, si en même temps, les cendres insolubles sont trop élevées (supérieures à 0,3 environ).

Encore une fois, nous ignorons si une caséine hyperacide *par*

constitution doit être condamnée ou, au contraire, désirée dans certaines applications. Une réponse générale ne saurait être admise.

Notons toutefois que si l'acidité constitutionnelle paraît trop faible (malgré une bonne déminéralisation et un excès de fermentation lactique), c'est qu'on a réalisé la cuisson à une température trop haute.

Inversement, une fermentation lactique normale avec bonne déminéralisation conduira à des caséines plus acides si on cuit à une température plutôt basse (50°).

Il nous manque encore la connaissance des exigences analytiques de l'industriel pour tel ou tel usage de la caséine. Nous nous emploierons à les obtenir, ou mieux, à les définir d'accord avec la pratique.

9. *L'extrait sec* des macérations aqueuses doit se tenir en dessous de 1,5% environ. S'il dépasse ce chiffre, on a affaire à des produits mal lavés.

10. *Les cendres totales* doivent rester en dessous de 0,5% environ (méthode de Shaw).

Si les cendres dépassent ce chiffre, il faut étudier les cendres solubles.

11. *Les cendres de l'extrait sec* de la macération aqueuse (« cendres solubles ») doivent normalement rester inférieures à 0,2-0,3% de la caséine. Si on dépasse ce chiffre (ce qui correspond naturellement à des cendres totales également trop fortes), c'est qu'on a affaire à de *mauvais lavages*.

Mais il faut calculer les cendres insolubles par différence. Si ces cendres insolubles sont très faibles ($< 0,3\%$), c'est que le produit mal lavé avait été précipité dans de bonnes conditions d'acidité. Si ces cendres insolubles sont élevées ($> 0,5\%$), c'est que le produit mal lavé était également insuffisamment déminéralisé.

On doit en même temps avoir une acidité constitutionnelle trop faible.

Enfin, si avec des cendres totales élevées ($> 0,5\%$), on a des cendres solubles très faibles ($< 0,3\%$), il s'agit d'une caillebotte bien lavée, mais qui n'avait pas été suffisamment déminéralisée. L'acidité constitutionnelle doit être trop faible là aussi.

Nous pourrions encore condenser davantage, en disant :

a) Les fermentations se jugent par les taux de caséine pure et d'azote soluble.

b) Les mauvais lavages se jugent par l'acidité extérieure, l'extrait sec des macérations et les matières minérales (solubles et insolubles).

c) Les précipitations à des acidités trop faibles (ou trop fortes)

se jugent par l'acidité constitutionnelle et les matières minérales (solubles ou insolubles).

d) Les températures de cuisson se jugent uniquement (jusqu'à plus ample informé) par l'acidité constitutionnelle, seul élément influencé par ce facteur.

Bien entendu, toutes les combinaisons de défauts ou d'accidents sont possibles ; mais dans la plupart des cas, le caractère dominant du plus grave d'entre eux apparaît avec netteté dans l'examen attentif des résultats de l'analyse.

* * *

Ces discussions et ces exemples montrent bien en présence de quelles difficultés on se trouve quand on veut juger une caséine avec les moyens de l'analyse classique : nous croyons avoir montré que les seuls éléments dosés d'ordinaire (azote total, acidité totale, cendres totales) sont incapables d'apporter la lumière désirée.

C'est pourquoi nous avons cru devoir chercher à élargir le cadre de l'analyse classique en portant les investigations sur l'étude des macérations aqueuses. L'habitude que nous avons du contrôle des caséines lactiques nous a vite montré la nécessité de cette réforme et nous a, dans une certaine mesure, permis d'en jeter les bases.

Nous ne considérons cette étude que comme un point de départ, d'ailleurs très imparfait.

Peut-être, certaines affirmations, certains chiffres même, devront-ils être modifiés à la suite de nouvelles recherches. En tout cas, l'ensemble devra sûrement être élargi et précisé. Nous nous permettons de convier les spécialistes de ces questions à reprendre et à compléter ce que nous n'avons qu'amorcé, dans l'intérêt général de la production de la caséine et des industries qui l'utilisent.

BIBLIOGRAPHIE ANALYTIQUE

1^o LES LIVRES

ANGELICI (Gaetano). — **Il latte alimentare** (Le lait aliment).
Stabil. Tipografico Centrale, via della Mercede, 227, Roma.
Prix : 15 lires.

« Il latte alimentare » est le titre d'un livre italien qui vient de paraître tout dernièrement, traitant la triple question de la production, de la conservation et de la consommation du lait.

La matière en est exposée dans sept chapitres et un appendice : 1^o introduction et considérations générales ; 2^o partie spéciale sur la valeur alimentaire du lait ; 3^o production et conservation du lait du point de vue hygiénique ; 4^o méthodes de