LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :

- A. K. VAN BEVER et J. STRAUB. — La signification de la réaction de Storch, de la vitesse de montée de la crème, ainsi que de la détermination des phosphatases pour le contrôle de la pasteurisation du lait (*A suivre*). 97
- J. PIEN. — Etude de la dilution des crèmes et de son influence sur la composition des babeurreux . . . 119
- A. EYRARD et R. J. JOUFFRET. — Etude d'une réaction peroxydasique appropriée pour la détection de l'eau oxygénée dans les laits de consommation . . 141
- M^{lle} M. MOREL et J. BARATTE. — Teneur du lait de la vache en vitamine PP. 147

Revue :

- L'embouteillage du lait en France. 149

Bibliographie analytique :

- 1^o Les livres 158
2^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 162

Bulletin bibliographique :

- 1^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 184
2^o Brevets 187

Documents et informations :

- M. BEAU. — La situation laitière 188
Fondation GORINI 192
Académie des Sciences :
Prix « Lac » 1942 192

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

LA SIGNIFICATION DE LA RÉACTION DE STORCH, DE LA VITESSE DE MONTÉE DE LA CRÈME AINSI QUE DE LA DÉTERMINATION DES PHOSPHATASES POUR LE CONTRÔLE DE LA PASTEURISATION DU LAIT (1)

par

A. K. VAN BEVER et J. STRAUB

Laboratoire du Service d'Inspection des denrées alimentaires à Amsterdam

Après quelques considérations préliminaires sur la nécessité et les moyens de contrôle de la pasteurisation, le chapitre premier décrit les méthodes

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

(2) Traduit du *Chemisch Weekblad* (26 avril 1941, t. 38, p. 210, D. B. Centen's Uitgevers-Maatschappij N. V., Amsterdam), par M. H. LECOQ, Agrégé de l'Université de Liège, Docteur ès-sciences, à qui *Le Lait* adresse ses très vifs remerciements.

d'examen du lait mentionnées en titre, employées pour le contrôle du processus de chauffage, en particulier la manière de procéder en usage au Service d'inspection d'Amsterdam.

Le chapitre II donne une bibliographie au sujet de la relation existant entre la concentration, la température et la durée de chauffage pour les enzymes et les bactéries dans le lait ; les Auteurs s'efforcent de résumer les faits en quelques formules, les résultats semblant correspondre à ceux fournis par leurs propres expériences de chauffage.

Le chapitre III donne un commentaire des conclusions pratiques relatives à ce qui précède, avec des exemples tirés de la pratique du Service d'inspection.

NÉCESSITÉ ET MOYENS DE CONTROLE DE LA PASTEURISATION

Le contrôle du lait de consommation, en Hollande, dont sont chargés les Services d'inspection des aliments, exige :

1° Un examen chimique de la composition, afin de savoir s'il satisfait aux règles contenues dans l'article 2, section 2 de l'arrêté sur le lait (*Staatsblad*, 43, 1929) : teneur en matière grasse, point de congélation, non coagulation, pureté, etc., ... et à la condition : « il ne peut rien y être ajouté ou en être retiré » (art. 2, sect. 2a) ;

2° Un examen bactériologique du nombre et de la nature des bactéries ; la consommation du lait ne peut présenter aucun danger pour la santé : « ... les microorganismes pathogènes doivent être absents » (Arrêté sur le lait, art. 2, sect. 2i) ;

3° Un contrôle de la propreté lors de l'obtention, du transport et de l'emballage éventuel du lait, pour lesquels l'arrêté sur le lait donne des prescriptions détaillées ;

4° Un examen de l'efficacité du chauffage du lait pasteurisé et stérilisé.

* * *

Les examens mentionnés (sous 2° et 3°) ont apporté et apportent encore des améliorations à la qualité du *lait cru*. Néanmoins, la consommation de lait cru doit être déconseillée à cause des risques d'infection par des germes pathogènes transmis par la vache (streptocoques de la mammites et bacilles de la tuberculose) ou bien pendant l'obtention ou le transport (fièvre typhoïde) (1). En cuisant le lait, le consommateur se protège contre toute infection et empêche le lait de s'acidifier et de coaguler.

En raison du désir des distributeurs d'empêcher le lait de « tourner » pendant la distribution et du besoin des consommateurs

(1) Le lait modèle qui satisfait aux exigences du nouvel Arrêté sur le « lait modèle » (Arrêté du Secrétaire général du Département des Affaires sociales, au sujet du lait modèle, du 18 novembre 1940), et qui est obtenu de la manière soignée décrite dans ce texte, peut être consommé cru.

de disposer d'un produit ne demandant pas une cuisson toujours pleine d'aléas, on en est arrivé à mettre dans le commerce du lait qui a déjà subi un chauffage. C'est le contrôle de cette opération à laquelle il est fait allusion sous 4° qui forme le véritable objet de cet article.

D'après son inventeur, l'opération porte le nom de *pasteurisation* quand la température est maintenue en dessous de 100° C., et de *stérilisation*, si elle dépasse cette température.

Un refroidissement rapide et la conservation dans un endroit frais après le chauffage sont nécessaires, si l'on veut prévenir le développement de nouvelles bactéries à partir des *spores* qui ont résisté à l'élévation de température.

Une bonne pasteurisation tue tous les germes pathogènes. Le lait peut alors être bu tel quel, à condition qu'il soit vendu dans des bouteilles stérilisées et hermétiquement fermées. Du lait pasteurisé vendu dans d'autres conditions doit quand même subir une cuisson, à cause des risques d'infection postérieurs à la pasteurisation.

Pendant longtemps, la seule méthode de production de lait pasteurisé, en bouteilles, a été le chauffage à la vapeur ou à l'eau chaude et le refroidissement rapide des bouteilles remplies de lait cru. (On a employé ces derniers temps des appareils dans lesquels les bouteilles subissaient un mouvement de rotation sur elles-mêmes pendant le chauffage et le refroidissement.)

La pasteurisation du lait « libre » s'effectue aussi avec de grandes quantités de lait à la fois, en récipients de 40 litres ou dans de grands réservoirs munis d'un système mécanique. On chauffe à l'eau chaude et l'on refroidit ensuite à l'eau froide. Pour la préparation de ce produit vendu non embouteillé, on se sert depuis longtemps d'appareils à courant continu, dans lesquels le lait est chauffé pendant son passage dans un canal tubulaire, puis est ensuite, parfois, maintenu quelque temps à la température acquise et finalement refroidi. Le refroidissement s'effectue à contre-courant, soit par le lait cru qui afflue (récupération de chaleur), soit au moyen d'eau froide, soit des deux façons.

Ces systèmes présentent tous le désavantage que le mélange est peu satisfaisant et que le lait est en partie chauffé à une température ou bien trop élevée, ou bien insuffisante. Dans les plus récents appareils à courant continu (« Voltana », de la fabrique « Volta Werk », à Gorredijk en Hollande et « Stassano », de la fabrique Maskinfabrik Silkeborg en Danemark sont des systèmes bien connus), les canaux à courant continu sont longs et étroits, de telle façon que tout le lait doit parcourir le chemin prescrit entre les surfaces chauffées. Ces appareils peuvent être employés

non seulement pour la préparation de lait libre, mais encore pour celle de lait en bouteilles, si l'on a soin d'opérer stérilement, d'employer un embouteillage et un capsulage stérilisés et des bouteilles parfaitement propres, ce qui est pratiquement réalisable avec les appareils complètement automatiques actuels. Le lait parcourt ces appareils dans un temps réduit, quelques minutes au plus, et il parcourt même, en quelques secondes seulement, les parties portées à la véritable température de pasteurisation. Cependant, ce lait ne peut être exempt de germes pathogènes que si : 1° la température préconisée et la vitesse exacte de parcours sont appliquées ; 2° la construction des appareils et l'entretien des garnitures préviennent l'infiltration de lait cru ou d'eau dans le lait déjà chauffé ; 3° l'appareil est quotidiennement et soigneusement nettoyé et si le lait cru est de bonne qualité.

La différence entre les appareils Voltana et Stassano consiste principalement dans la forme des canaux étroits dans lesquels le lait passe : dans la construction « Voltana », le lait coule dans un espace en forme de ruban, ménagé en zig-zag entre des plaques de métal qui sont chauffées par derrière au moyen d'eau chaude ; dans la construction « Stassano », le lait passe à travers un espace cylindrique, de un millimètre d'épaisseur, entre deux tubes concentriques, à l'intérieur et à l'extérieur desquels coule de l'eau chaude.

Il est certain que le lait souffre de la cuisson, entre autres parce que des produits de décomposition en changent l'odeur et le goût. En ce qui concerne la valeur nutritive, nous savons que le chauffage à l'air libre (et encore l'usage ménager de laisser le lait cuire fortement), fait baisser la teneur en vitamine C d'une manière importante.

Le développement de la technique de la pasteurisation que nous avons esquissé a eu pour résultat que, dans les systèmes les plus récents, le lait chauffé, soigneusement pasteurisé et mis en bouteilles, peut être parfaitement exempt de bactéries pathogènes et ne le cède nullement en goût, odeur et teneur en vitamine C au lait cru. Si le prix en est quelque peu élevé, il faut considérer l'économie de travail et de combustible réalisé auprès de la cuisson à la maison.

Il ne faut donc pas s'étonner de voir de plus en plus employer ces appareils de pasteurisation modernes par les grosses firmes distributrices notamment. En effet, le lait traité de cette façon constitue déjà un pourcentage considérable du lait utilisé dans les villes.

* * *

Cette évolution n'est pas sans danger. C'est que les installations de pasteurisation offrent à présent sur une grande échelle un produit qu'on prétend être chauffé à une température si élevée qu'il

peut être consommé sans cuisson, et, cependant, en même temps à une température assez réduite pour qu'il présente le même goût que le lait cru. Comme nous allons le voir, un tel produit exige beaucoup des appareils et de leur service.

Le « safety-first », qui doit prévaloir dans l'intérêt de la santé publique, exige un maintien précis d'une durée et d'une température de chauffage nécessaires pour tuer tous les germes pathogènes.

Il convient aussi, avant d'employer un nouvel appareil, de s'assurer que sa construction et son fonctionnement sont tels que, s'il est correctement employé, le produit présente suffisamment de garanties.

A cet effet, pour les nouveaux types, un examen bactériologique est nécessaire, afin de prouver que dans des conditions normales et bien précisées de fonctionnement, les risques de survie des germes pathogènes les plus résistants à la chaleur (c'est-à-dire les bacilles de la tuberculose) sont réduits à néant (2).

Pour les types approuvés, si le lait est mis en vente, il faut encore un contrôle régulier de l'observation des exigences bactériologiques contenues dans l'Arrêté sur le lait en ce qui concerne le lait pasteurisé, tandis qu'il est souhaitable de rechercher, de temps à autre, au moyen d'épreuves sur des cobayes, comme cela se fait à Amsterdam, si les bacilles de la tuberculose sont réellement absents.

L'inspection technique, à côté de l'inspection bactériologique, paraît être, dans la pratique, un complément important : l'étalonnage régulier des thermomètres, le contrôle de la propreté et de l'étanchéité des appareils, l'étude des diagrammes des thermomètres auto-enregistreurs mettent en lumière les défauts et les négligences.

C'est au fabricant lui-même qu'incombe en premier lieu le contrôle quotidien décrit ici, car il est responsable de la sûreté de son produit vis-à-vis des acheteurs. La sécurité exige cependant que l'Autorité elle aussi, en l'occurrence le Service d'inspection, contrôle fréquemment et avec exactitude, pour se rendre compte si les appareils et le produit présentent toutes les garanties désirées et s'ils satisfont à toutes les exigences.

L'inspection bactériologique de la pasteurisation du lait par le Service d'inspection est basée sur l'Arrêté sur le lait qui, dans son article 29, formule des exigences générales de propreté aux entreprises où le lait est traité, et qui, dans son article 13, exige, en ce qui concerne le lait pasteurisé en bouteilles, qu'il contienne moins de 25.000 microorganismes vivants par centimètre cube, et qu'il ne contienne pas de colibacilles (dans 5 cm³), ni de microorganismes en

(2) Pour un rapport d'une telle expertise, consulter : A. C. RUYS, M. LERNER, J. STRAUB. *Voeding*, n° 4, 1939.

bâtonnets en quantité extraordinaire. En outre, l'Arrêté sur le lait contient l'article 30, facultatif, dans lequel sont spécialement formulées les exigences concernant l'installation des entreprises de pasteurisation qui peuvent être déclarées en vigueur pour une commune déterminée, par décision du collège des bourgmestres et échevins, comme cela a été le cas à Amsterdam.

La grande capacité des appareils les plus récents (4.000 litres de lait par heure et plus) fait que la qualité de grands volumes de lait de consommation dépend du soin avec lequel une seule machine est desservie et nettoyée ; de plus, cela fait sentir le besoin de *méthodes simples de recherches, au moyen desquelles on pourrait contrôler après coup les procédés de traitement sur le « produit fini »*, afin d'intervenir dans le cas de fautes, et cela plus rapidement que par les méthodes bactériologiques ou par une inspection technique. (En outre, à cause de la complication actuelle des installations, la constatation du bon état des appareils et des instruments auto-enregistreurs lors de l'inspection n'est pas encore une garantie suffisante d'un service parfait.) Depuis 1929, Amsterdam a ordonné à l'échelle communale que, dans le lait pasteurisé en bouteilles, la réaction de Storch doit avoir un résultat négatif, c'est-à-dire que le lait doit être chauffé à une température si haute et si longtemps (*pasteurisation haute*) qu'il ne présente plus l'enzyme peroxydase. (Nous distinguons plus loin ce lait comme « lait surpasteurisé ».) Par cette prescription, le lait « sous-pasteurisé » fut banni de la ville, celui-ci ne fut pas jugé sûr à cause du procédé de préparation (*pasteurisation basse*) suivi alors. Du début cependant fut admise, dans l'Arrêté, la stipulation que l'exigence d'un Storch-négatif pourrait être levée « s'il apparaissait que la pasteurisation était suffisante aux bourgmestres et échevins ». Ceci se fit alors afin de pouvoir tenir compte du développement de la technique. A présent, on fait usage de cet article de l'arrêté pour mettre certaines conditions à des entreprises qui veulent préparer du lait pasteurisé, en bouteilles, avec les appareils Stassano ou Voltana, conditions sous lesquelles le lait peut être estimé sûr, même quand la température et la durée du chauffage sont si restreints que la réaction de Storch a un résultat positif.

Ces conditions ont trait à la construction et à l'emploi des appareils, au remplissage automatique des bouteilles et à la compétence et à l'état sanitaire du personnel.

Enfin, il est apparu que, pour ce « lait sous-pasteurisé » aussi, il existe une réaction simple et rapide afin d'établir que le lait a subi un chauffage suffisant : la réaction « phosphatase » de Kay. Aussi, les conditions selon lesquelles l'exigence de la réaction de Storch pourrait être levée, et que nous avons données ci-dessus, comprennent que le lait pasteurisé ne doit plus présenter de phosphatase.

La bibliographie mentionne trois méthodes qui sont employées comme indices d'un chauffage suffisant du lait, à savoir : la détermination de la teneur en peroxydase, celle de la vitesse de montée de la crème, et celle de la teneur en phosphatase. (Nous laissons en dehors de nos considérations ce qui n'a pas su se maintenir en face des recherches des dernières années ; par exemple : la détermination de la teneur en amylase, les réactions de sédimentation, l'emploi de gaïac, du gaïacol (3).)

Dans ce qui suit, les trois méthodes seront discutées selon le plan suivant :

- I. Description des méthodes ;
- II. Théorie qui explique leur possibilité d'emploi ;
- III. Application au contrôle du lait pasteurisé, en particulier, de la principale : la réaction de phosphatase.

I. — DESCRIPTION DES MÉTHODES

1° Détermination de la teneur en peroxydase

La recherche qualitative est la réaction bien connue de Storch (4). L'enzyme peroxydasique accélère la formation d'une matière colorée bleue à partir du mélange « H_2O_2 et paraphénylène-diamine ». Si l'on ajoute ces matières à du lait cru, le mélange prend immédiatement une coloration bleue. Le chauffage par exemple pendant quelques minutes au-dessus de $79^\circ C$. détruit l'enzyme.

Si l'on effectue la réaction d'après l'Arrêté royal (2 gouttes de solution de H_2O_2 à 1% et 4 gouttes d'une solution à 2% de paraphénylène-diamine chlorhydrique dans l'eau, pour 5 cm^3 de lait), l'absence de coloration bleue est une preuve certaine d'un chauffage du lait à une température suffisamment élevée et d'une durée suffisante pour tuer tous les germes pathogènes.

La réaction de Storch présente l'avantage de donner un résultat immédiat et peut être effectuée par un inspecteur sur le lieu même de la vente. Un grand désavantage en est sa sensibilité restreinte, qui fait que de légers pourcentages de lait cru, mélangé au lait pasteurisé, peuvent ne pas être révélés. C'est seulement lorsque ces pourcentages dépassent 5 à 10% que la coloration bleue apparaît rapidement et d'une manière probante. Une mesure quantitative n'est pas possible non plus.

Ces dernières années, dans le contrôle de la pasteurisation du lait destiné à l'élevage de veaux, il a été effectué des déterminations

(3) Pour une liste détaillée des publications sur ce sujet avant 1934, consulter : M. JANSEN. *Chem. Weekblad*, **31**, 156, 1934.

(4) V. STORCH. *Z. Untersuch. Nahr. Genussm.*, **2**, 239, 1899.

quantitatives de peroxydase ; la méthode suivante, décrite par FINCK (5), nous a semblé convenable :

Agiter 20 cm³ de lait, dans un tube à réaction, avec 4 gr. de (NH⁴)₂SO₄ en poudre. Filtrer. Ajouter à 5 cm³ du sérum (qui est limpide et peut se conserver plusieurs jours) 5 cm³ d'eau distillée, 1 cm³ de solution aqueuse de paraphénylène-diamine chlorhydrique (à 1 % et ne datant pas de plus de 3 jours), 1 cm³ d'ammoniaque (à 2,5 %) et 1 cm³ de solution de H₂O₂ (à 1 %). Ajouter, 3 minutes plus tard exactement, 1 cm³ de H₂SO₄ (0,4 N). On obtient un liquide d'un brun jaune. Dans les dix minutes qui suivent l'addition de H₂SO₄ (temps pendant lequel l'intensité de coloration, d'après nos expériences, reste parfaitement constante), on mesure l'absorption.

Au lieu de nous servir, comme FINCK, d'une cellule photo-électrique, nous avons effectué les mesures avec un Stufomètre de Zeiss-Pulferich, dans une cuvette de d cm (pour d furent choisis 0,5 — 1-2 ou 3 cm.) avec un filtre S 53 (lumière pratiquement monochromatique de 530 mμ). Nous lûmes la grandeur $\log I_0/I$ (I_0 = intensité lumineuse incidente, I = intensité lumineuse transmise) ; ce chiffre fut calculé sur une épaisseur de 3 cm. par multiplication par $3/d$.

A notre avis, il est nécessaire d'effectuer en même temps et de la même façon une détermination avec du lait du même échantillon, après que celui-ci ait été chauffé à 100° C. (dans un tube à réaction) au bain-marie, pendant 7 minutes. Le véritable résultat de la détermination est la différence entre les deux mesures. Cette valeur est une bonne mesure de la teneur en peroxydase de l'échantillon de lait original.

En concordance avec les communications de FINCK, nous avons trouvé dans des mélanges de lait cru et cuit, entre 10 et 80 % de cru, une relation linéaire entre la concentration et le résultat. En dehors de cette marge de concentration, la couche est faiblement incurvée. Moins de 2 % de lait cru ne peuvent plus être révélés (tableau A). Pour le lait cru non dilué les résultats se répartissent entre 5. — et 8. —.

La méthode peut fournir des données concernant le mode de chauffage (durée et température) pour les laits d'assez forte pasteurisation. On trouvera quelques exemples dans le tableau G. Comme nous allons le voir, il existe déjà une méthode plus sensible pour révéler le lait cru. Le perfectionnement, décrit ici, de la réaction de Storch, vient probablement trop tard pour avoir encore une grande signification pratique.

Nous n'avons encore vu donner nulle part de description du « pararéactif » (5) qui serait plus sensible que la paraphénylène diamine H₂O₂.

(5) E. FINCK. *Milchw. Forsch.*, **19**, 339, 1938.

TABLEAU A

RÉSULTATS DES DÉTERMINATIONS QUANTITATIVES DE PEROXYDASE
DANS DES MÉLANGES DE LAIT CRU ET DILUÉ

Lait cru %	Log. $1_0/1$, $d = 3$; $\lambda = 530$	
	Lu	Après déduction des valeurs des essais à blanc
0	0,24	
10	0,59	0,35
20	1,25	1,01
30	1,96	1,72
50	3,28	3,04
60	4,00	3,76
70	4,61	4,37
80	4,91	4,67
90	5,20	4,96
100	5,50	5,26

La température et la durée de chauffage, nécessaires pour détruire la peroxydase, sont inférieures à celles qui sont appliquées au lait dit « surpasteurisé », mais elles sont plus élevées que celles qui n'atteignent pas encore le goût et l'odeur. C'est pourquoi la réaction de Storch n'est justement pas à même de distinguer le lait sous-pasteurisé, traité de façon moderne, du lait cru.

2° Vitesse de séparation de la crème

En 1922, VAN DAM et ses collaborateurs ont étudié en détail la vitesse de séparation de la crème du lait.

Il paraît que, parmi les nombreux facteurs qui influencent la séparation de la crème (rapport solide-fluide du contenu des globules gras, viscosité du sérum, diamètre et adhérence des globules gras, potentiel de la couche de surface, teneur en albumine), il en est un qui varie d'une manière particulièrement forte avec le degré de chauffage, notamment le pouvoir adhésif réciproque des globules gras.

Ce pouvoir apparaît, lorsqu'on laisse reposer le lait : les globules forment alors des agglomérats en forme de grappes. Si l'on agite, cette formation de grappes se désagrège complètement, l'effet est réversible. Les globules gras aussi bien que les grappes suivent parfaitement la loi de Stoke. En concordance avec leurs grandes dimensions, les grappes subissent moins de résistance au gramme que les particules séparées dont elles sont formées, et montent plus

vite que ces dernières à la surface du lait, formant ainsi la couche de crème (6 et 7).

Par le chauffage du lait, la vitesse de séparation de la crème diminue fortement. Au lieu d'une demi-heure, il peut se passer plusieurs jours avant qu'une couche de crème visible ne se forme. On doit admettre (7) qu'une substance albuminoïde est la cause de l'adhérence, substance qui est rendue inactive par chauffage. Cette matière correspond dans son comportement à l'agglutinine du sérum sanguin (8). (L'action agglutinante du sang disparaît, de même que le pouvoir de crémage du lait, après 15 minutes de chauffage à 65° C.) On est encore arrivé à rendre ce pouvoir au lait pasteurisé, non seulement en y ajoutant de l'ammoniaque et des solutions de gomme adragante, de gomme arabique, de mucilage de graine de lin, de mousse d'Islande, et de matières analogues (8 et 9), mais encore en ajoutant 5% de sérum sanguin (8). Van Dam (6) a dissous dans le lait un peu de rouge du Soudan, qui s'incorpore à la graisse, et par lequel la crème se distingue en rouge du sérum. Il sépare la crème de 250 cm³ de lait dans des cylindres gradués.

Afin d'éliminer l'influence de la teneur variable en matière grasse, il emploie comme mesure la grandeur suivante : degré de

$$\text{crémage} = 100 \frac{\text{poids de la crème} \times \text{teneur en M. G. de la crème}}{\text{poids du lait} \times \text{teneur en M. G. du lait}}$$

Il doit mesurer non seulement l'épaisseur de la couche de crème, mais aussi les poids spécifiques et les teneurs en matière grasse. La température est maintenue constamment à $+9 \pm 0,1^\circ \text{C.}$ et le lait destiné au crémage est chauffé d'abord à 40° C. pour fondre la graisse des globules.

ORLA-JENSEN et JAKOBSEN (10 et 11) font crémier le lait dans des butyromètres à crème de Höyberg. Ils recommandent, comme mesure du chauffage, deux fois l'épaisseur de la couche de crème du lait, quand celui-ci est étendu d'un même volume d'eau, divisé par la teneur en matière grasse du lait non dilué (rapport C.). Auparavant, ils portent toujours le lait pendant 5 minutes à la température de 50° C.

Sans parler des pesées laborieuses (dont on peut se passer sans inconvénient, quand il s'agit de lait mélangé pasteurisé avec une

(6) H. A. SIRKS, W. VAN DAM. *Versl. Landbk. Onderz. Rijkslb. proefst.*, **26**, 106, 1922.

(7) B. VAN DEN BURG. « *Melk als Emulsie* », 8° Diesede, Wageningen, 1926 (un résumé des faits et des théories).

(8) W. VAN DAM, E. HEKMA, H. A. SIRKS. *Versl. Landbk. Onderz. Rijkslb. proefst.*, **28**, 100, 1923.

(9) K. SAKUREI. *Biochem. Z.*, **149**, 525, 1924.

(10) S. ORLA-JENSEN. *Le Lait*, **9**, 622, 724, 816, 914, 1032, 1933.

(11) J. E. JAKOBSEN. *Z. Untersuch. Lebensmittel*, **71**, 515, 1936.

teneur en matière grasse à peu près constante), la méthode de Van Dam possède l'inconvénient d'exiger une grande quantité de lait, tandis que lorsqu'il s'agit de lait crémant lentement, l'épaisseur de la couche de crème a, après 8 heures, l'ordre de grandeur du ménisque de la couche, et ne peut donc être mesurée qu'avec peu de précision. Nous n'avons pas réussi à trouver des liquides dont une couche, flottant sur la crème, prévienne cet inconvénient. La méthode d'Orla-Jensen est tout aussi peu utile quand on a affaire à des épaisseurs de crème restreintes.

Avec la méthode suivante, rapidement applicable, il nous est possible de différencier des échantillons de lait, dont l'intensité de chauffage est telle qu'ils renferment encore la peroxydase et que la phosphatase est déjà éliminée :

Le lait, qui a été conservé en glacière depuis le prélèvement des échantillons, doit être de nouveau rendu homogène en mélangeant prudemment sans faire naître de bulles d'air.

Dans un tube à réaction, on ajoute avec précaution 30 cm³ environ du lait à 0 cm³ 2 d'une solution de bleu d'alcali — 6 B (préparé en portant à l'ébullition 0 gr. 5 de matière colorante dans 100 cm³ d'alcool, dans un ballon à reflux pendant 10 minutes ; refroidir et filtrer).

On mélange avec précaution le contenu du tube à réaction (fermé avec le ponce) en le retournant sur lui-même.

Comme récipient de crémage, on se sert d'un tube cylindrique en verre épais, ouvert aux deux bouts. Un bout (à la partie inférieure) est rétréci en forme de cône ; à l'autre bout (supérieur) ouvert, le diamètre est normal. La longueur, sans la pointe, est de 20 cm., le contenu de 25 cm³. Le bord supérieur est plat, et soigneusement poli, perpendiculairement à l'axe du tube. Le tube tenu verticalement, fermé en bas par le doigt, est rempli complètement de lait, que l'on laisse couler le long de la paroi. Couvert ensuite d'une lame de verre comme un tube de polarimètre, sans inclure une bulle d'air, il est enfin déposé dans un tube de culture rigoureusement vertical (qui doit fermer étroitement autour du récipient de crémage) et dans lequel on aura mis quelques gouttes d'eau. (Cette disposition prévient l'introduction d'air lors de changements de température ; elle assure un ménisque supérieur de la crème plat et une séparation « lait-crème » horizontale. La matière colorante rend la surface inférieure de la couche de crème mieux visible.)

On mesure avec une précision de 0 cm. 05 l'épaisseur de la couche de crème, au moyen d'une règle métallique, à partir de la surface inférieure de la lame de verre, une heure après le début de l'opération, et ensuite chaque heure jusqu'à ce qu'une épaisseur de 0 cm. 2 au moins soit atteinte. Nous donnons comme résultat final ce qui a été appelé par nous $t_1\%$. Ceci est le temps en heures nécessaire pour faire naître une couche de crème de 0 cm. 2 dans une colonne de lait de 20 cm. On effectue une interpolation linéaire entre deux observations si la première lecture est plus petite que 0 cm. 2, entre 0 et la première lecture, si la première est plus grande que 0 cm. 2. Le résultat est arrondi à un chiffre près le signe décimal. Le tableau B donne

quelques exemples de calcul. Les tableaux F et G montrent les résultats de recherches quotidiennes.

Après un peu d'exercice, l'essai ne demande, pour être installé, pas plus de 2 minutes par échantillon. Il est préférable de remplir les tubes le matin en vue des échantillons qui crèment lentement.

TABLEAU B
EXEMPLES DE DÉTERMINATION DE LA VITESSE DE CRÉMAGE

Temps	Numéro de l'échantillon		
Début : 9,30	12357	12358	12359
	Épaisseur de la couche de crème		
10,30	—	—	—
11,30	0,05	—	0,30
12,30	0,10	0,05	
13,30	0,40	0,15	
14,30		0,80	
$t_1\%$	3,3	4,1	1,3

Il arrive souvent, avec des échantillons crémant rapidement, que la couche de crème se dessine seulement lorsqu'elle a dépassé une épaisseur de 0 cm. 2. La question qui se pose ici est de savoir si, jusqu'à ce moment, les globules gras ne sont pas encore montés à la surface, ou encore si la concentration de la matière grasse dans la couche de crème a augmenté graduellement, mais une sorte de désagrégation doit encore avoir lieu dans la couche grasseuse avant qu'elle ne se dessine visiblement. Nous croyons que cette dernière hypothèse est la bonne, et ceci à cause du fait que, dans les cas où une très mince couche de crème se dessine déjà, les lectures ainsi que le point zéro des coordonnées dans le graphique temps-épaisseur se trouvent sur une courbe floue. La prescription que le moment $t_1\%$ cherché doit être trouvé par interpolation sur la droite entre 0 et le premier point, quand ce dernier se trouve plus haut que 0 cm. 2, reçoit par ceci la valeur d'une approximation permise (voir fig. 1a).

Nous avons choisi la grandeur $t_1\%$ au lieu de l'épaisseur de la crème après 2 ou 24 heures, ainsi que cela se fait généralement parce que, après 2 heures, du lait crémant lentement ne donne pas de valeurs, et parce que, 7 heures après le début de l'expérience, beaucoup d'échantillons atteignent la même valeur terminale, malgré des différences notables dans l'heure de maximum et la

croissance de la couche. Pour du lait crémant rapidement, l'épaisseur de crème après 1 ou 2 heures est une mesure du mode de chauffage aussi sensible, bien qu'elle ne soit pas meilleure que $t_1\%$ (du lait crémant rapidement a par nature un petit $t_1\%$).

L'influence de la variation de la teneur en matière grasse et de la température du local a semblé être beaucoup moindre que l'influence de la variation en température de pasteurisation et nous l'avons négligée dans la suite.

La figure 1a montre les courbes « épaisseur de la crème-temps » que nous avons observées sur un certain nombre d'échantillons de lait, qui étaient pasteurisés avec la même vitesse mais à des températures différentes, dans un appareil industriel à courant continu. Ces courbes démontrent le phénomène décrit par ORLA-JENSEN (10) selon lequel, si la température de pasteurisation augmente (et si la durée est constante), la vitesse de crémage devient d'abord plus élevée que celle du lait cru et ensuite plus petite.

Les courbes des échantillons à crémage rapide font encore voir que l'épaisseur de la crème parcourt un maximum, avant de s'approcher d'une limite. Les couches de crème inférieures compriment probablement les supérieures, et ce mouvement a encore lieu pour les échantillons à crémage rapide, quand l'adduction d'endessous a cessé.

Les figures 1b et 1c donnent des résultats que nous avons obtenus avec des mélanges de lait cru et cuit. Il est remarquable que l'épaisseur de crème après 8 heures est proportionnelle au pourcentage de lait cru (fig. 1b).

La figure 1c démontre pourtant, en même temps, que la mesure de la crème ou épreuve crémométrique est aussi peu capable de démontrer des traces de lait cru dans le lait pasteurisé que la réaction de Storch.

Figure 1a. — Variation d'épaisseur, avec le temps, de la couche de crème d'échantillons de lait qui sont pasteurisés à la même vitesse de passage mais à une température variable (sous-pasteurisation ; pré-chauffage à 70° C.).

TABLEAU C
RELATION ENTRE LA VITESSE DE CRÉMAGE ET LA TEMPÉRATURE

traitement du lait	T ₁ %
Non chauffé	0,3
Préalablement chauffé à 70°	0,14
Préalablement chauffé à 70°, past. pendant quelques secondes à 75°	0,15
Préalablement chauffé à 70°, past. pendant quelques secondes à 76°	0,20
Préalablement chauffé à 70°, past. pendant quelques secondes à 77°	0,4
Préalablement chauffé à 70°, past. pendant quelques secondes à 78°	1,8
Préalablement chauffé à 70°, past. pendant quelques secondes à 79°	3,5
Chauffé au point que la peroxydase a considérablement diminué ..	> 8,0

Figure 1b. — Epaisseur de la couche de crème après 8 heures dans des mélanges de lait cru et cuit.

3° La mesure de la teneur en phosphatase

On en est redevable aux recherches de KAY et de ses collaborateurs, au *National Institute for Research in Dairing* (Reading), qui, quelques années déjà après l'invention des appareils de pasteurisation du type Stassano, permirent au contrôle du lait de disposer d'une nouvelle réaction enzymatique, réaction pouvant aussi

discerner si du lait, pasteurisé au moyen de ces appareils, a subi ou non un chauffage suffisant.

Du tissu du pis de la vache, une phosphatase passe dans le lait, phosphatase qui libère l'acide phosphorique des éthers monophosphoriques et qui est le plus active en milieu alcalin (pH optimum = 8,9) (12). KAY (12) préjugea de son existence en 1925 après qu'il eût observé qu'avait lieu dans le lait une diminution spontanée des éthers phosphoriques et en même temps une augmentation correspondante d'acide phosphorique inorganique. KAY (12) prouva la justesse de son hypothèse en montrant que le lait libère l'acide phosphorique du glycérophosphate.

Figure 1c. — Variation d'épaisseur, avec le temps, de la couche de crème de mélanges de lait cru et cuit (% signifie lait cru).

Figure 1d.

Log. iog $1/p$ et température de pasteurisation T de chacun des échantillons de la figure 1a ; p est le pourcentage de lait cru dans ce mélange cru-cuit, dont la couche de crème présente la même épaisseur que l'échantillon pasteurisé (mesuré après 8 heures).

Comme mesure pour la concentration des enzymes, KAY avait choisi au début la vitesse de cette hydrolyse (mesurée en déterminant la quantité d'acide phosphorique produit). Il abandonna pourtant cette méthode (sur le conseil de KING et ARMSTRONG) au

(12) H. D. KAY, W. R. GRAHAM, *Journ. Dairy Research*, 5, 54, 1934.

profit d'une méthode (13) dans laquelle on ajoutait du phénylphosphate à un tampon de véronal recommandé par MICHAELIS, et où le phénol libéré est transformé au moyen du réactif de Folin et Ciocalteu en un composé bleu de « phospho-tungsto-molybdène ». FOLIN (14) avait trouvé que cette réaction se prêtait particulièrement bien à une détermination colorimétrique à cause de la proportionnalité de l'extinction avec la quantité de phénol sur un grand trajet de concentration. NEAVE facilita la prévention de troubles en ajoutant de l'héxamétaphosphate au réactif (14a).

Nous avons suivi la méthode de Kay comme suit (15) :

Ajouter, dans un tube à essais (marqué avec *S* et le numéro de l'échantillon) 0 cm³ 5 de lait à 10 cm³ de « solution de substrat-tampon » (une solution tampon de phénylphosphate di-sodique). Laisser écouler la pipette de 0 à 0,5. Prendre une nouvelle pipette pour chaque échantillon.

Agiter le liquide avec 3 gouttes de chloroforme pur pour tuer les germes. Fermer le tube avec un bouchon de caoutchouc bien lavé. Chauffer pendant 18 à 24 heures, en plaçant à l'étuve à 37° C.

Refroidir ensuite dans de l'eau glacée, et ajouter au moyen d'une pipette calibrée (de 10 cm³) 4 cm³ 5 (exactement) de « réactif modifié de Folin-Ciocalteu ». Agiter deux fois très énergiquement (en tenant le tube fermé au moyen du même bouchon) à 15 minutes d'intervalle et filtrer deux fois sur le même filtre de papier lisse (9 cm.). La première fois, recueillir le filtrat dans le tube original et la seconde fois dans un tube de culture que l'on a pourvu circulairement d'un trait repère à 10 cm³ et qui est aussi marqué *S* et du numéro de l'échantillon.

Ajouter à 10 cm³ exactement du filtrat 2 cm³ de solution de carbonate de soude et mélanger en retournant. Placer le tube dans un bain-marie en verre à moitié rempli d'eau bouillante. Maintenir le bain bouillant au moyen d'un brûleur jusqu'à ce que de petites bulles de gaz soient visibles dans le tube. Retirer alors la flamme et laisser encore le tube dans le bain pendant 10 minutes.

Le réactif de Folin et le phénol (libéré du phénylphosphate par la phosphatase) ont formé un produit de réaction d'un bleu durable, dont la concentration est proportionnelle à la quantité de phénol libéré, cette dernière étant proportionnelle à la quantité de phosphatase ajoutée au début. L'intensité de la concentration de la matière colorante se lit, après refroidissement ou plus tard (jusque 24 heures après la préparation), au Stufomètre de Zeiss-Pulfrich ou bien est comparée à une solution standard dans un colorimètre courant.

Le résultat doit être corrigé à cause de l'influence du lait sur le réactif

(13) H. D. KAY, W. R. GRAHAM. *Journ. Dairy Research*, **6**, 191, 1935. Voir aussi H. D. KAY. *Nutrition Abstracts and Revs*, **9**, n° 1, juillet 1939.

(14) O. FOLIN, V. CIOCALTEU. *Journ. Biol. Chem.*, **73**, 627, 1927.

(14a) F. K. NEAVE. *Journ. Dairy Research*, **10**, 475, 1939.

(15) Méthodologie chimique selon KAY, GRAHAM et NEAVE. Lecture Stufu et correction d'après les expériences du Service d'inspection des denrées alimentaires, Amsterdam, septembre 1939.

de Folin, puis d'un peu de phénol spontanément libéré dans le substrat-tampon, et encore de la coloration légèrement bleue du réactif de Folin seul.

On effectue pour chaque échantillon en même temps, et de la même façon décrite ci-dessus, une détermination où on ajoute 0 cm³ 5 de lait à 10 cm³ d'eau distillée, au lieu de solution de substrat ; marquer ces tubes d'un W.

Dans chaque série S- et W-, on effectue deux déterminations à blanc, respectivement avec et sans substrat, lesquelles diffèrent, en cela seulement des déterminations ordinaires, qu'on n'y ajoute pas de lait. Distinguer l'essai à blanc S et l'autre essai à blanc W.

Soit la concentration a_s pour la détermination S, a_w pour la détermination W, a_{bls} et a_{blw} pour les déterminations à blanc ; le résultat est :

$$a = a_s - a_w - (a_{bls} - a_{blw}).$$

puisque :

Effets de phosphatase + substrat + Folin + lait	= a_s
— — — Folin — lait	= $-a_w$
— — — substrat — Folin	= $-a_{bls}$
— — — Folin	= a_{blw}
Effet de phosphatase	= a

Réactifs

Solution de substrat-tampon. — Peut se conserver plusieurs semaines en glacière. Préparation : dissoudre 11 gr. 54 de véronal sodique et 1 gr. 09 de phénylphosphate disodique dans un litre d'eau distillée. Ajouter quelques gouttes de chloroforme.

Il est plus facile de conserver ce réactif sous forme de tablette. On peut alors le conserver pendant des mois dans un endroit obscur. Il faut dissoudre deux de ces tablettes (qui étaient dans le commerce et qui y reparaitront peut-être) dans 100 cm³ d'eau distillée, un peu avant usage.

Réactif de Folin et Ciocalteu. — Produit commercial de bonne conservation. Préparer et conserver dans l'obscurité et à l'abri des poussières.

PRÉPARATION : Faire bouillir 12 gr. 5 de Na₂ MoO₄, 2 aq. ; 50 gr. de Na₂ WO₄, 2 aq. ; 350 cm³ de H₂O ; 25 cm³ de H₃PO₄ à 85 % et 50 cm³ de HCl 38 %, avec quelques grains de belle pierre ponce, dans un ballon à fond rond, d'un litre, à goulot étroit relié par rodage à un réfrigérant ascendant ; ébullition calme pendant 10 heures au total. (Le réfrigérant peut être aussi adapté par un bouchon de caoutchouc entouré d'une feuille d'étain.) Ajouter alors 75 gr. de Li₂SO₄, 25 cm³ de H₂O et quelques gouttes de brome liquide. Faire bouillir ensuite 15 minutes sans réfrigérant, pour éliminer l'excès de brome. Après refroidissement, compléter le mélange jusqu'à un demi-litre avec de l'eau distillée, et filtrer.

Réactif de Folin et Ciocalteu modifié. — Peut se conserver trois semaines environ. Conserver dans l'obscurité et à l'abri des poussières.

PRÉPARATION : Ajouter 15 gr. de métahexaphosphosphate de sodium

($\text{Na}_3\text{P}_2\text{O}_7$) en poudre fine à 333 cm³ d'eau distillée. Après dissolution complète, filtrer si nécessaire, ajouter 167 cm³ du réactif de Folin-Ciocalteu clair décrit ci-dessus et mélanger.

Solution de carbonate de soude. — Peut se conserver deux mois dans un flacon bouché.

PRÉPARATION : Dissoudre 14 gr. de Na_2CO_3 anhydre, en poudre, chimiquement pur, pour 86 cm³ de H_2O . Filtrer la portion nécessaire avant emploi.

Filtres. — Le papier-filtre doit être « à l'épreuve des acides ». Par exemple, les marques Schleicher et Schüll 597 ou Delta 314 suffisent pour toutes les filtrations.

Objets en verre. — Nettoyer à l'eau savonneuse chaude et à l'eau potable suffit. Rincer quotidiennement le flacon de substrat. Le savon doit être exempt de phénol.

Mesures. — *Lecture au Stufomètre :* Employer le filtre S 61 (longueur d'onde 610 mμ). Epaisseur de fond des cuvettes : 0 cm. 5. Remplir avec la pipette. Lire le chiffre rouge. Cette grandeur, appelée a , est prise par nous comme mesure de la concentration et a la valeur de $\log$. (intensité lumière incidente/intensité lumière transmise) pour $d = 0,5$ et $\lambda = 610$.

Si l'on doit aussi mesurer les corrections, on mesure le a des déterminations en blanc, du tube S et du tube W (respectivement a_{bls} , a_{blw} , a_s , a_w) séparément : la solution bleue dans la cuvette de droite, l'eau dans la cuvette de gauche ; effectuer trois essais, ajustements du tambour, et faire la moyenne des lectures.

Résultat de phosphatase : $a = a_s - a_w - (a_{bls} - a_{blw})$. Dans les déterminations de phosphatase en série, on s'épargne les mesures des blancs et les soustractions comme suit :

La solution S à blanc dans la cuvette de droite, la solution W à blanc dans celle de gauche, tourner le tambour gauche sur 0,1 rouge, et le droit jusqu'à ce que les champs de vision soient également éclairés. Lire le tambour de droite, mais le laisser en place pour les véritables mesures des échantillons. Ensuite : la solution de la détermination S dans la cuvette de droite, le liquide de la détermination W correspondante dans celle de gauche. Tourner le tambour gauche jusqu'à ce que les champs de vision soient également éclairés. La lecture diminuée de 0,1 est égale au résultat a de la détermination de phosphatase. Une seule lecture par échantillon de lait peut ainsi suffire.

Une série de déterminations, effectuées avec 0 cm³ 5 de solution de phénol dans des concentrations allant en augmentant, confirma la remarque de FOLIN, selon laquelle les résultats augmentèrent en stricte proportion avec la quantité de phénol (fig. 2). C'est là une preuve qui vaut en même temps pour la loi Lambert-Beer et pour la proportion des concentrations de phénol et de produit de réaction « bleu ». Nous avons trouvé confirmée également la constance, aussi agréable qu'exceptionnelle, de l'intensité de coloration,

depuis le moment de préparation de la solution bleue jusque quelques jours plus tard.

Une série de déterminations fut effectuée ensuite, où furent traités conformément à la prescription 0 cm³ 5 de différentes dilutions du même lait cru avec de l'eau distillée, donc chaque détermi-

Figure 2.

Résultats de déterminations de phénol. 0 cm³ 5 de solution de phénol + 10 cm³ de H₂O + 4,5 de réactif de Folin-Ciocalteu (modifié) + 2 cm³ de solution de Na₂CO₃ (14 %), chauffé à 100° C. (L'axe horizontal donne la concentration du phénol dans les 0 cm³ 5 ajoutés.)

nation en double (avec et sans substrat). Comme le fait voir la figure 3, les valeurs lues sont proportionnelles à la quantité de lait. Ceci montre, tout d'abord, que la quantité de phénol, qui est libérée dans l'étuve en un temps donné, est un bon étalon de mesure pour la concentration de phosphatase initiale (16).

En concordance avec les graphiques de Kay, nous avons trouvé que la séparation de phénol après 18 heures d'action à 37° C. n'augmente plus de façon notable.

Si l'on choisit ce temps comme durée d'action minimum, le résultat est alors indépendant de ce temps d'étuvage, ce qui est également un avantage.

Figure 3.

Détermination de phosphatase avec des mélanges d'eau et de lait cru: la courbe S donne les résultats de déterminations de phosphatase d'après KAY; la courbe W donne les résultats de la même détermination en laissant de côté le phénylphosphate de disodique.

(16) Il faut s'attendre à cela: dans l'étuve, la phosphatase est, d'une part, annihilée par la chaleur, d'autre part, le phénol est libéré par la phosphatase restante. Si la vitesse de formation du phénol est proportionnelle à tout moment à la concentration de phosphatase, et si l'annihilation, en pour cent, de la phosphatase, est égale pour des temps égaux, on a l'égalité (si K et λ représentent des constantes):

$$[\text{phénol}]_t = \int_0^t K e^{-\lambda t} [\text{phosphatase}]_{t=0} dt = [\text{phosphatase}]_{t=0} f(t).$$

La figure 3 montre que non seulement la valeur du substrat mais encore les valeurs en l'absence de substrat augmentent proportionnellement à la concentration du lait.

Ceci, de même que la valeur absolue de cette coloration bleue dans les échantillons dilués, prouve que le lait contient en quantité restreinte (mais variable) des matières qui réduisent le réactif de Folin et Ciocalteu. Nous avons constaté que leur concentration n'est que peu ou pas influencée par le chauffage du lait.

De cette dernière constatation, résulte la possibilité d'éliminer les effets du lait et des produits chimiques d'une manière beaucoup plus simple à décrire : on effectue deux déterminations *S* (voir plus haut), une avec du lait non modifié, et une avec du lait du même échantillon, après que celui-ci a été chauffé dans un tube à réaction pendant 5 minutes à 100° C. au bain-marie. La différence des résultats est la mesure de la teneur en phosphatase de l'échantillon. Nous nous sommes assurés que les résultats obtenus de cette façon étaient parfaitement semblables à ceux obtenus avec les déterminations *S* et *W*. Le désavantage de cette méthode est le chauffage supplémentaire et l'emploi augmenté de la solution de substrat-tampon. D'autre part, les mesures, dans le travail en série, ne prennent pas moins de temps.

Il est remarquable que la dispersion des valeurs des déterminations *S* (notamment une erreur moyenne dans *a* d'environ 0,04 trouvée dans les déterminations en double, séries des dilutions, épreuves au moyen de lait d'un seul échantillon mais pasteurisé à des températures différentes, statistiques des déterminations de phosphatase d'une seule installation de pasteurisation) est plus grande que celle des déterminations *W* (voir fig. 3) et des déterminations au moyen de solution de phénol au lieu de lait (fig. 2). Il est probable que cette variation est due principalement à l'action de la phosphatase dans l'étuve et non à des erreurs de pipettage et de lecture.

Les mesures au Stufomètre ont, sur celles effectuées au tintomètre de Lovibond (que KAY a employé pour ses mesures) l'avantage que les filtres dont on se sert pour cet appareil sont identiques dans leur comportement à des monochromateurs de longueur d'onde connue avec précision, et que les résultats sont exprimés en valeur absolue. Les résultats au tintomètre, par contre, dépendent de la fabrication et de la combinaison des verres colorés, de facteurs individuels et de la valeur de la concentration, si bien qu'il faut rechercher la relation entre la lecture et la concentration dans des courbes empiriques. Il est à craindre que des différences d'avis ne surgissent quant à l'interprétation exacte des lectures au tintomètre, comme c'est le cas pour les déterminations de vitamine A

(se reporter aux recherches détaillées du tintomètre dans la même bande de longueur d'onde, effectuées par NOTEVARP et WEEDON (17).

Si les frais d'achat empêchent l'emploi du Stufomètre, on ne pourra mieux faire, à notre avis, que d'employer un simple « Authenrieth » ou un colorimètre de ce genre et de comparer la solution bleue des déterminations de phosphatase à la lumière blanche à celle d'une détermination, effectuée en même temps, d'une solution pure de phénol. Si les cuvettes, perpendiculairement à la marche des rayons, ont une section de 2 cm², ou moins, on peut atteindre une précision suffisante. Dans ce cas, la mesure suivante remplace celle du Stufomètre :

Les valeurs de S à blanc, W à blanc, du liquide S et W , doivent être exprimées dans celle d'une solution standard. Si l'on appelle les grandeurs obtenues respectivement : A_{bls} , A_{blw} , A_s et A_w (donc l'épaisseur de la couche-solution standard divisée par l'épaisseur de la couche-solution $S = A_s$, etc...), le résultat de la détermination de phosphatase est alors :

$$A = A_s - A_w - (A_{bls} - A_{blw}).$$

Comme solution standard, on a employé le liquide bleu, fraîchement préparé, obtenu en effectuant une détermination W complète (comme décrit pour le lait), à la condition d'ajouter, au lieu de lait, 0 cm³ 5 de solution aqueuse de phénol (p grammes par litre) à 10 cm³ d'eau dans un tube de culture (si l'on fait varier l'épaisseur de la couche de la solution standard, choisir $p = 0,2$).

Soit A = concentration de la solution bleue à mesurer/conc. sol. standard et A_{blw} = la valeur A de la détermination W à blanc (donc les résultats obtenus avec un colorimètre au choix) et $a = \log I_0/I$ pour une épaisseur de couche de 0 cm. 5 et une longueur d'onde de 610 mμ de la même solution bleue (mesurée au Stufomètre) ; on peut alors calculer les résultats au Stufo, en partant des valeurs du colorimètre au moyen de la formule $a = \frac{1,70Ap}{1 - A_{blw}}$.

Le chiffre 1,70 est basé sur nos mesures au moyen de solutions de phénol, dont la concentration était déterminée titrimétriquement (18). Le phénol chimiquement pur conserve pendant des mois, en flacon bouché, une concentration de 98 à 99 %.

Les liquides à forte proportion de phosphatase doivent être étendus d'autant d'eau qu'il est nécessaire pour rendre $a < 1,0$ sinon un précipité apparaît dans la solution bleue, tandis que l'intensité de coloration du liquide n'augmente plus.

Le lait cru doit être étendu 100 fois. Après multiplication de a mesuré, par 100, on trouve des chiffres de 20. — à 40. —, c'est-à-dire 500 à 1.000 fois l'erreur moyenne des résultats de phosphatase dans le lait pasteurisé. *La méthode de Kay est donc capable de révéler*

(17) O. NOTEVARP, N. W. WEEDON, *Biochem. Journ.*, **30** III, 1705, 1936.

(18) D'après SCHMIDT, *Pharm. Chim.*, II, p. 1140.

du lait cru dans des concentrations de 0,1%. C'est là une sensibilité qui a la grande utilité de découvrir des quantités, qui, si même elles concernent des restes gâtés dans les récipients ou l'appareil, sont encore toujours suffisantes pour infecter de nouveau le lait pasteurisé de germes pathogènes ou de tellement de bactéries d'acide lactique, que sa conservation en est diminuée.

On a procédé, ces derniers temps, à des réactions de phosphatase, où la durée d'action de la phosphatase sur le phénylphosphate a été réduite à une heure. D'après nos constatations, on a sacrifié ici la précision exigée pour la sûreté du lait à un gain de temps moins important (lequel n'est quand même pas suffisant pour rattraper le volume de lait réparti dans le commerce). La méthode rapide originale de Sharer (19) emploie le 2,6-dibromo-quinonechlorimide comme réactif de phénol au lieu du réactif de Folin et Ciocalteu; elle a comme désavantage qu'il n'existe pas de relation linéaire entre l'absorption et la concentration du lait. Nous ne trouvons pas non plus de constance dans l'intensité de coloration. D'autre part, le résultat dépend beaucoup de la durée d'action sur le phénylphosphate; il marque d'abord une diminution lors d'une augmentation de la durée de séjour dans l'étuve, puis il accuse de nouveau une augmentation. Le contrôle des produits chimiques par des épreuves à blanc est impossible, vu qu'il faut la présence de lait aussi bien que de phénylphosphate pour prévenir des troubles.

D'après une récente publication du laboratoire de KAY (20), la méthode a été améliorée, mais les résultats publiés témoignent encore toujours d'une très grossière méthodologie. Nous savons, par expérience personnelle, qu'il est très difficile d'éviter des troubles et tenons la précision pour insuffisante. D'ailleurs, KAY (13) a élaboré un mode opératoire court (le A-test), qui donne, si on le désire, des résultats rapides et moins précis. Pour le contrôle du lait de pasteurisation basse (réaction de Storch positive), elle nous paraît aussi peu sûre et d'une précision insuffisante.

En concordance avec les résultats de KAY, nous n'avons jamais trouvé d'augmentation de la phosphatase dans le lait vieilli, aussi longtemps qu'aucune altération n'est intervenue. Avant cela, une influence de la croissance de bactéries sur la réaction est exclue.

La teneur en phosphatase du lait écrémé et du babeurre peut être déterminée de la même façon que celle du lait. (KOPPEJAN a étudié en détail l'influence du pH du lait sur la phosphatase (29a).)

La teneur en phosphatase du beurre préparé de lait cru est importante: il est vrai que la phosphatase est insoluble dans la graisse, mais elle semble rester amassée à la surface des globules

(19) H. SHARER. *Journ. Dairy Science*, **21**, 22, 1938.

(20) R. ASCHOFFENBURG, F. K. NEAVE. *Journ. Dairy Research*, **10**, 485, 1939.

gras (21 et 22) et elle n'est que très imparfaitement éliminée lors du lavage du beurre (à l'opposé de la peroxydase), tandis que l'eau du beurre en présente une teneur relativement élevée. (Nous nous sommes convaincus de ces faits en préparant nous-mêmes du beurre avec de la crème de lait cru.) *Ceci montre que la détermination de la phosphatase est le seul moyen chimique de se rendre compte si du beurre, ou un mélange de beurre et de margarine ou du « kwark »*, etc., est préparé avec du lait pasteurisé ou non.*

KAY (13) détermine la phosphatase du beurre dans l'eau qui se sépare du beurre à 37° C. *Nous avons effectué cette détermination dans le beurre au moyen d'une méthode, que l'on peut aussi employer pour des mélanges de beurre et de margarine (qui parfois n'exsudent pas encore d'eau à 37° C.) :*

On chauffe 5 gr. de beurre non fondu avec 5 cm³ d'eau distillée et 0 cm³ 2 d'huile sulfuricinique dans un tube de culture fermé d'un bouchon de caoutchouc ; chauffer à 37° C. jusqu'à ce que le beurre soit à moitié fluide. On rend ensuite cette masse homogène en secouant énergiquement. On procède ensuite à une détermination *S* et *W* de l'émulsion de la façon décrite pour le lait.

Nous déterminons la phosphatase dans le « kwark » et les produits du même genre en broyant 5 gr. dans un mortier avec 10 cm³ d'eau et 0 cm³ 2 d'huile sulfuricinique et en traitant la suspension obtenue comme le lait.

(A suivre.)

ÉTUDE DE LA DILUTION DES CRÈMES ET DE SON INFLUENCE SUR LA COMPOSITION DES BABEURES

par

JEAN PIEN

Ingénieur chimiste, Docteur ès Sciences, Directeur des Laboratoires de la
Laiterie des Fermiers Réunis

La crème, comme le lait entier dont elle provient, peut être schématiquement représentée comme un mélange de lait écrémé et de matière grasse. Théoriquement, elle ne contient donc pas d'eau — en dehors de l'eau de constitution du lait lui-même.

Or on constate pratiquement que beaucoup de crèmes sont plus ou moins diluées par un apport d'eau et l'étude technique du problème montre qu'il est difficile d'éviter complètement cette dilution. En effet : si le mouillage des crèmes ne résulte pour

(21) C. E. RIMPILA, L. S. PALMER. *Journ. Dairy Science*, **18**, 827, 1935.

(22) G. S. KADT. *Chem. Weekblad*, **36**, 427, 1939.

* Mélange de caséine et de matière grasse, obtenu par filtration de lait coagulé par acidification lactique ou par action de la présure.