LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :

- A. C. VILLANOVA et O. BALLARIN. — Etude au microscope électronique de la structure du lait en poudre « Spray » 114
- M. BEAU. — Sur la maturation des fromages 122
- G. THIEULIN. — Prophylaxie contre la tuberculose bovine. Production laitière et « B.C.G. » 141

Revue :

- G. GÉNIN. — La production laitière dans le monde . . . 147

Bibliographie analytique :

- 1^o Les livres 157
- 2^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 162
- 3^o Brevets 195

Bulletin bibliographique :

- 1^o Livres 198
- 2^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 200
- 3^o Brevets 204

Documents et informations :

- Les belles installations laitières :
- J. MINUT. — La « Conaprole » de Montevideo 207
- Jubilé du Professeur-docteur MOHR 221
- G. GÉNIN. — L'attribution du prix Borden en 1949 . . . 221
- Congrès international de la distribution des produits alimentaires 224
- « L'Alimentation et la Vie » . . . 224
- Erratum 224

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

ÉTUDE, AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE, DE LA STRUCTURE DU LAIT EN POUDRE « SPRAY » (2)

par

A. C. VILLANOVA et O. BALLARIN

I. Introduction et caractéristiques du lait en poudre

Le lait en poudre constitue un système de particules dispersées dans l'air, particules qui ont une structure compliquée.

L'emploi du microscope optique pour l'examen du lait en poudre est utile, soit dans la recherche, soit dans le contrôle industriel.

(1) Reproduction interdite sans indication de source,

(2) Travail ayant fait l'objet d'une Communication à l'Académie Brésilienne de Médecine Militaire et retenu pour paraître en langue portugaise dans une revue médicale.

Encore dernièrement, Russel N. BELL [1] faisait ressortir l'avantage que présente ce système lorsqu'on a recours, en même temps, à la lumière polarisée.

En effet, pour ne citer qu'un exemple, WASHBURN [4] estime que la solubilité du lait en poudre dépend en grande partie de la dimension des particules qui doit — pour un bon produit — osciller entre 75 et 150 μ .

D'autre part, on sait que la conservation du lait en poudre exige qu'on évite l'action de l'air (qu'il soit à l'intérieur ou à l'extérieur des particules) sur la graisse. Il en ressort que l'étude de la distribution de celle-ci dans la particule même a une importance technologique.

KING [2] a résumé les connaissances actuelles sur la structure des particules de lait en poudre en tenant compte des derniers travaux publiés, surtout par PALMER et DAHLE, WASHBURN, LAMPITT et BUSHILL, COULTER et JENNESS.

II. Le lait en poudre sous le microscope optique

Il ressort de ces travaux, en premier lieu, que le microscope optique, comme l'avait déjà signalé Ch. PORCHER [3], permet de voir de suite s'il s'agit de lait traité par un des procédés dits de « cylindres », ou s'il s'agit d'une poudre obtenue par atomisation (spray, etc.). Le premier (qui n'a pas fait l'objet de nos recherches) a une apparence plutôt grossière, comprenant des lamelles compactes apparemment sans bulles d'air. La graisse se trouverait dissoute dans la masse de la protéine, mais en grande partie aussi à la surface.

Les particules de lait spray, au contraire, sont comme on peut le voir au microscope optique, assez régulières de forme et de surface. La microphotographie n° 1 nous les montre à la lumière ordinaire transmise (avec un grossissement initial de 600 diamètres, porté photographiquement à 3.200).

Sur la microphoto n° 2, nous voyons la même image à la lumière polarisée (en employant comme polarisateur et analyseur des lamelles de polaroïde, c'est-à-dire de l'iodo-sulfate de quinine) et les détails y sont mieux visibles.

La microphotographie n° 3 (lumière polarisée, même grossissement que photos antérieures) est celle d'un babeurre semi-écrémé. On voit déjà un certain changement dans la masse protéinique, causé peut-être par l'acidification biologique à laquelle le lait a été soumis.

L'examen de ces particules peut être fait au microscope optique également en employant des colorants. PALMER et DAHLE, après avoir laissé tomber de la poudre sur de l'acétone à 60% (ce qui fait

coaguler partiellement les protéines), ajoutent une solution N/50 de HCl et traitent ensuite la poudre par une solution saturée de soudan III en acétone. Après quelque temps, la préparation est lavée avec de l'acétone à 20%.

WASHBURN employa une technique semblable.

Microphoto. n° 1 ($\times 3.200$)

Lait en poudre vu à la lumière transmise
(ordinaire)

Microphoto. n° 2 ($\times 3.200$)

(polarisée)

Grâce à des recherches dans le même ordre d'idées, LAMPITT et BUSHILL démontrèrent que la graisse se trouve tellement renfermée dans les particules de lait en poudre qu'elle ne peut pas être attaquée par les solvants habituels (ce qui explique l'emploi de NH_4OH dans la méthode de l'extraction à l'éther pour le dosage de la graisse dans le lait en poudre). Une partie de la graisse, cependant, est exposée et peut être atteinte par les solvants. Elle représenterait 91 à 95% du total dans le lait en poudre « cylindres » et seulement 4 à 14% dans le produit « spray », où la graisse se trouverait, par conséquent, en quelque sorte protégée.

Microphotographie n° 3 ($\times 3.200$)
Babeurre semi-écrémé. Poudre vue à la
lumière transmise polarisée

C'est pour compléter ces études que nous avons pensé avoir recours au microscope élec-

tronique. Toutefois, avant d'entrer dans les détails de la technique employée, nous jugeons bon de donner quelques généralités sur la microscopie électronique.

III. Considérations générales sur la microscopie électronique

La microscopie électronique doit sa naissance à la possibilité de traiter une émission cathodique comme un rayon lumineux de longueur d'onde définie. Cette émission peut être condensée ou dispersée ; les électrons peuvent soit pénétrer dans la matière, soit être déviés par elle, permettant ainsi la formation d'une image soit sur l'écran fluorescent, soit sur la plaque photographique.

Or, nous savons qu'à l'œil nu l'homme ne peut pas distinguer deux points éloignés l'un de l'autre de moins d'un dixième de millimètre ; en réalité, pour bien les voir, il faut qu'ils soient au moins à deux dixièmes de millimètre de distance l'un de l'autre.

Les loupes et les microscopes permettent justement, à l'aide du grossissement, de voir plus nettement les détails. Ainsi, par exemple, pour percevoir une distance de 2μ (0,002 mm.), il faut un grossissement de 100 diamètres. Autrement dit, en augmentant le facteur de grossissement, il est possible de voir davantage de détails. Ceux-ci ne deviennent pas toujours indéfiniment plus nombreux au fur et à mesure que l'on élève le facteur de grossissement, car la capacité de pénétrer dans la structure de l'objet observé a une limite.

En effet, Ernest ABBE, à la fin du siècle passé, démontra que cette limitation n'était pas due aux imperfections des appareils optiques, mais provenait uniquement de la longueur d'onde utilisée.

La capacité d'une loupe de séparer deux points très proches est appelée « pouvoir résolvant ». On démontre mathématiquement que cette capacité est inversement proportionnelle à la longueur d'onde de la lumière utilisée et directement proportionnelle à l'ouverture numérique de la loupe avec laquelle on travaille. Avec le meilleur microscope actuel, et en employant la lumière commune, dont la longueur d'onde la plus petite est de 4.200 angstroms ($\text{\AA}$), nous avons un pouvoir résolvant de $1.800 \text{ \AA}$ ($0,18\mu$) et un grossissement utile maximum de 1.100 diamètres. En employant la lumière ultra-violettes fournie par l'onde de résonance du mercure ($2.537 \text{ \AA}$), le pouvoir résolvant sera de $1.100 \text{ \AA}$ ($0,11\mu$) et le grossissement utile maximum de 1.800 diamètres.

Avec le microscope électronique, on n'emploie plus la lumière, mais bien une émission d'électrons pour former les images. Le pouvoir résolvant et le pouvoir de grossissement dépendent naturellement de la longueur d'onde associée à l'électron, qui est en fonction de la tension d'accélération. Or, pour une tension d'accélé-

ration de 50.000 volts (habituelle dans les microscopes électroniques de modèle commercial), le calcul nous a montré que la longueur d'onde associée aux électrons est de $0,0535 \text{ \AA}$, donnant un pouvoir résolvant théoriquement égal à $1 \text{ \AA}$. Cependant, les aberrations et les autres défauts provoqués par les champs magnétiques (qui sont semblables à ceux produits dans les objectifs des microscopes oculaires) n'ont pas permis d'atteindre cette valeur théorique. Actuellement, les bons microscopes électroniques ont un pouvoir résolvant de l'ordre de $10 \text{ \AA}$, ce qui permet de voir environ 110 fois plus de détails qu'avec le meilleur microscope optique. Le grossissement maximum fourni directement est d'environ 25.000 diamètres. La netteté de l'image que l'on obtient et que l'on peut photographier est telle cependant qu'elle permet (dans les limites du grain de l'émulsion) d'en faire le grossissement optique ultérieur par la photographie, en donnant la possibilité d'atteindre un grossissement total d'environ 200.000 diamètres et même davantage.

Le microscope électronique est en somme, en dernière analyse, un tube cathodique. Tout d'abord, l'émission passe à travers une ouverture anodique qui lui donne l'accélération désirée ; ensuite, les électrons traversent un premier champ magnétique, grâce auquel ils acquièrent une orientation rectiligne et parallèle. Ce champ joue ainsi le rôle du condensateur du microscope optique. Puis ils traversent la préparation posée sur une pellicule très fine de collodion et sont soumis au deuxième champ magnétique. Celui-ci disperse les rayons d'électrons, permettant ainsi l'obtention d'une première image déjà bien agrandie. Une partie de cette image est à nouveau grossie par un troisième champ magnétique, donnant alors l'image finale qui est observée à l'écran fluorescent ou photographiée. Ceci exige que la préparation soit soutenue par un matériel dont la composition et la structure ne présentent aucun obstacle aux électrons (le verre est donc immédiatement exclu) et qui, d'autre part, soit suffisamment fort pour résister au bombardement électronique et au vide. C'est pourquoi la lame en verre du microscope optique est remplacée dans le microscope électronique par la couche très mince de collodion (environ $100 \text{ \AA}$ d'épaisseur), placée sur une grille en acier inoxydable qui a 400 mailles dans un cercle de $1/32^{\text{e}}$ pouce de diamètre.

L'émission électronique rencontre donc la préparation en passant à travers ce grillage et projette sur l'écran fluorescent, pour ainsi dire, l'ombre de l'objet, toutefois pleine de détails.

Le but de ce travail a été justement d'étudier si le pouvoir résolvant et grossissant du microscope électronique jetait une lumière nouvelle sur la constitution de la particule de lait en poudre.

IV. Le lait en poudre sous le microscope électronique

Etant donné les limitations qu'impose la technique de l'examen d'un objet au microscope électronique, nous avons essayé différentes méthodes. Les difficultés sont accrues lorsque l'on veut éviter que le bombardement électronique porte atteinte à la constitution même de la particule. En outre, si nous essayons de mettre de la poudre en suspension dans un liquide qui n'attaque pas les substances solubles dans l'eau et que nous choisissons un solvant organique, celui-ci dissoudra la graisse, et ainsi de suite.

C'est pour cette raison d'ailleurs que la technique dite « d'enveloppement », si répandue en microscopie électronique, ne donne pas de résultat : on obtient sous le microscope électronique une image empâtée. D'autre part, en plaçant directement sur la grille métallique la poudre de lait celle-ci ne resterait pas adhérente lorsqu'on ferait le vide. C'est pourquoi nous avons adopté la méthode suivante :

Formation de la pellicule de collodion.

Cette pellicule est ensuite saupoudrée de lait sec passé au tamis de 300 « mesh » (en agissant de la sorte, on ne prend évidemment que les particules extrêmement petites ayant des dimensions inférieures à celles citées par WASHBURN que nous avons mentionné ci-dessus. Mais il est nécessaire de procéder ainsi pour que les particules soient visibles dans leur totalité à travers l'espace libre des mailles de la grille qui soutient la préparation).

La grille métallique fine est alors soigneusement posée.

Le tout est recueilli sur une lame de verre (qui sert de support temporaire) et mis à sécher à l'étuve.

Lorsque la substance est sèche, on place la grille dans le porte-objet du microscope électronique.

La microphotographie n° 4 présente une particule de lait grossie originalement à 3.500 diamètres et portée par l'agrandissement photographique à 14.000 diamètres. On voit nettement que la particule est un amas amorphe (probablement de protéines et de lactose) dans lequel se trouvent des globules gras et quelques cristaux. Ceci nous prouve que la particule est, en réalité, un ensemble « complet » dans lequel sont réunis vraisemblablement tous les composants du lait et que la graisse y est finement divisée en globules très petits (ce qui justifie ses excellentes propriétés diététiques dans l'alimentation du nourrisson).

La microphotographie n° 5 nous permet de voir un détail de la microphotographie n° 6, grossi originalement à 12.500 et porté photographiquement à 50.000 diamètres. On voit même la présence

d'un plus grand nombre de menus cristaux et la conformation des globules gras.

Microphotographie n° 4 ($\times 14.000$)

Particule de lait en poudre spray vue au microscope électronique

En ce qui concerne les cristaux, la microphotographie n° 6 est plus instructive, car nous y voyons des formes mieux caractérisées (cristaux cubiques de NaCl ?).

Observation : On y remarque aussi un défaut du collodion.

La microphotographie n° 7 présente d'autres cristaux, ce qui nous amène à conclure qu'effectivement, lors de la pulvérisation, il y a une certaine cristallisation. Nous n'avons pas rencontré, toutefois, de cristaux de lactose.

Microphotographie n° 5 ($\times 40.000$)
Détail de la microphotographie n° 4

Microphotographie n° 6 ($\times 25.000$)
Détail d'une particule de lait en poudre
spray

Microphotographie n° 7 ($\times 50.000$)
Détail d'une particule de lait en
poudre vu au microscope élec-
tronique. L'ombre noire, à gau-
che, n'est autre qu'une partie
d'une maille de la grille métallique

Par contre, en ce qui concerne la graisse, il est intéressant de comparer la microphotographie n° 4 à la microphotographie n° 8 qui est celle d'un lait en poudre entièrement écrémé. On y remarque la structure amorphe de la masse intermédiaire que nous avons vue

sur les microphotographies 4 et 5, mais on note l'absence de globules gras.

Au cours de cette recherche, nous avons trouvé également dans le lait quelques cocci dégénérés (microphotographie n° 9). Leur examen nous montre que ces bactéries ont une enveloppe protectrice dont l'épaisseur est d'environ 0 mm. 000028.

Il est intéressant de comparer cet aspect à celui obtenu en partant de cultures pures (microphotographie n° 10). On remarque ici que la pellicule n'est pas uniforme et qu'elle contient peut-

Microphotographie n° 8 ($\times 50.000$)
Lait en poudre entièrement écrémé
vu au microscope électronique

Microphotographie n° 9 ($\times 50.000$)
2 cocci lactiques trouvés dans le lait en poudre

être des corpuscules ou autres matières.

De toute façon, l'examen de streptocoques lactiques ainsi que d'autres bactéries lactiques fera éventuellement l'objet d'une étude à part.

Microphotographie n° 10 ($\times 100.000$)
Coccus lactique provenant d'une
culture pure

V. Conclusion

Malgré les difficultés d'observation et autres qui empêchent que l'examen du lait en poudre au microscope électronique ne devienne une opération de routine, cette recherche nous permet néanmoins d'avoir une idée plus claire de la constitution des particules du lait en poudre. Elle nous montre, en effet, que dans chaque particule les composants du lait se trouvent bien distribués, notamment que la graisse est extrêmement divisée et que certains sels sont cristallisés, alors que le lactose ne l'est peut-être pas.

Les auteurs sont reconnaissants au Chef du Laboratoire de Recherches Scientifiques du Département Fédéral de la Santé Publique de Rio de Janeiro d'avoir bien voulu permettre que ces recherches soient faites dans la Section de Chimie Légale, et lui adressent tous les remerciements.

(Rio de Janeiro, juin 1959).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] N. BELL RUSSEL. Polarizing microscope. A quality control instrument. *Food Industries*, 20, 1775, 1948.
- [2] N. KING. Torrmjölakens Fysikaliska Struktur. *Svenska Mejeritidningen*, 10, 95, 1949.
- [3] Ch. PORCHER. Le lait desséché, Lyon, 1912. 2^e édition, 1926.
- [4] R. M. WASHBURN. The physical analysis of dry milk. *Journal of Dairy Science*, 5, 388, 1922. (Cité par KING l. c.).

SUR LA MATURATION DES FROMAGES (1)

par

MAURICE BEAU

Ingénieur Agronome

La maturation des fromages est une opération extrêmement compliquée, sur laquelle nous n'avons jusqu'alors que des données très restreintes. Nous savons bien qu'elle est, en majeure partie, due à des diastases ou enzymes secrétées par les microbes et qui agissent sur la caséine de la même façon que le font les enzymes du tube digestif, c'est-à-dire en produisant une digestion de la caséine insoluble du caillé.

En ce qui concerne les enzymes de l'appareil digestif, on en compte au moins trois groupes : la *pepsine*, de l'estomac, la *trypsine*

(1) La plus grande partie du présent travail est basée sur l'étude très détaillée des méthodes de dosage des produits de la maturation des fromages, exécutée à la laiterie d'essai de l'Etat suédois à Alnarp, par le Professeur danois *Mogens T. Sode Mogensen* et publiée dans les *Meddelande fran Statens Mejeri Forsök*, n° 21, 1947, sous le titre : « Bestemmelse af Osten proteolytiske Spaltningsgrad med saerligt Henblik paa Formoltitreringen ».