LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :

- Z. ZELTER. — Travaux biochimiques et biophysiques récents sur la structure et la constitution des caséines . . . (à suivre) 481
- A. C. F. KRUIJER. — « Overrun » : l'artère vitale de la beurrerie canadienne . . . 494
- C. N. R. S. — Travaux et recherches sur le lait et les produits laitiers (à suivre) 500

REVUE :

- G. MOCQUET. — Orientation des recherches sur le lait en France . . . 508

Supplément technique :

- G. GÉNIN. — Influence des dispersions de caséine et autres protéines sur la stabilité au froid des émulsions de latex . . . 514

BULLETIN ANALYTIQUE :

- 1° Revues . . . 521
- 2° Brevets . . . 525

Bibliographie analytique :

- 1° Les livres . . . 530
- 2° Journaux, Revues, Sociétés savantes . . . 536
- 3° Brevets . . . 578

Bulletin bibliographique :

- 1° Journaux, Revues, Sociétés savantes . . . 579
- 3° Brevets . . . 583

Documents et informations :

- La Fédération internat. de laiterie (Cinquantenaire-Elections) . . . 584
- L'importance de la production laitière française . . . 586
- Embouteillage du lait . . . 587
- Normes de pasteurisation . . . 588
- Neutralisation de la crème . . . 589
- Substances additionnées aux produits laitiers en Suède . . . 590
- Couvercles en caoutchouc pour pots de lait . . . 590
- Propagande industrie laitière hollandaise . . . 591
- Littérature laitière . . . 591
- Journées d'informations vétérinaires panafricaines . . . 592

MÉMOIRES ORIGINAUX (1).

TRAVAUX BIOCHIMIQUES ET BIOPHYSIQUES RÉCENTS SUR LA STRUCTURE ET LA CONSTITUTION DES CASÉINES

par

Z. ZELTER

Ingénieur Docteur

INTRODUCTION

Normalement, le lait de vache contient environ 0,5% de N, dont la distribution schématique peut être présentée comme voici [35] :

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

100 parties de composés azotés totaux

↓			↓
95 (protéides)			5 non-protéides
↓	↓	↓	↓
78,5	9,2	3,3	4,0
(caséine)	(albumine)	(globuline)	(protéose-peptone)

Ainsi, parmi les colloïdes protéiques qui constituent un système dispersé dans le lait, la caséine représente l'élément dominant. Elle se trouve à l'état de suspension colloïdale sous forme de micelles de grosseur variable. Qu'elle soit préparée à partir d'une grosse ou d'une petite micelle, la composition de la caséine serait, selon EILERS [16], pratiquement la même.

On entend par caséine, le protéide précipitable à partir du lait écrémé, par acidification à son point isoelectrique, situé au voisinage du pH 4,6-4,7. Nous ne confondons pas cette substance, qui a fait l'objet d'une étude approfondie, avec celle de *paracaséine*, qui résulte de la coagulation du lait par empesurage au pH naturel moyen de 6,7, et qui ne reprécipite pas une seconde fois. De celle-ci, nous ne parlerons qu'incidemment, son étude se trouvant liée étroitement au problème fort complexe du mode d'action de la présure, mal connu pour le moment. On suppose, du fait que la caséine-présure n'est plus coagulable, qu'elle présenterait des différences de structure avec celle de la caséine-acide. Mais la nature de ces différences et les modifications que produit l'empesurage dans la paracaséine restent encore présentement très imprécises.

Dans l'exposé qui va suivre, nous étudierons principalement la caséine du lait de vache, car, dans la littérature actuelle, les données concernant les caséines de lait d'autres espèces animales, et de lait humain, sont beaucoup plus rares.

PREMIÈRE PARTIE

ÉTUDE DE LA CASÉINE GLOBALE

I. Structure et constitution de la caséine pure

A. Propriétés chimiques.

La caséine est un protéide phosphoré. C'est aussi un protéide soufré, par sa teneur en cystine et methionine.

1° *Forme du phosphore engagé dans la molécule de caséine :*

Les travaux maintenant classiques de POSTERNAK [52], ont démontré que le noyau phosphoré de la caséine est formé par la soudure de quatre molécules d'acide serine-phosphorique, l'acide

phosphorique étant fixé par estérification des radicaux OH alcooliques de la serine selon le schéma ci-après :

RAPPOPORT [57] a affirmé depuis, que dans la caséine, le phosphore forme également des esters avec la thréonine. Tout récemment, VERDIER [70], isolant de la phosphothreonine à partir de caséine de vache, confirme ce point de vue. Selon EILERS et col. [16], 24 molécules de phosphore se trouveraient engagées ainsi dans la molécule de ce protéide.

De nombreux auteurs sont parvenus à séparer de la caséine au moyen d'une hydrolyse enzymatique, des peptides (« phosphopeptones »), riches en phosphore et dont le rapport N/P est d'environ 2. L'extraction de phosphopeptides de la caséine par la technique de digestion à la trypsine a été décrite en premier par RIMINGTON et KAY [58]. En soumettant du lait de vache à l'action de la trypsine, POSTERNAK [52] parvient à en isoler des substances peptidiques dénommées par lui « lactotyrimines », qui renfermaient 5,9% de P, 11,9% de N, des traces d'acides glutamique et aspartique, de serine et d'isoleucine. Peu après, LIPMANN [36], ainsi que LEVENE et HILL [32], parviennent à extraire, le premier de la phosphoserine à partir de la caséine, et les seconds de l'acide phosphoryl-glutamique à partir du phosphopeptide de POSTERNAK.

Combinant l'action de la pepsine à celle de la trypsine, DAMODORAN et RAMACHANDRAN [9], réussissent à isoler en 1941, un phosphopeptide à l'état de sel de baryum, renfermant 4,34% de P et 6,46% de N et constitué par trois restes aminés d'acide glutamique, 3 d'isoleucine et 4 de serine.

Plus récemment enfin, MELLANDER [37], utilisant une technique analogue, sépare en 1947 des phosphopeptides de laits de vache et de femme. Les premiers contenaient 5,3% de P et 7,0% de N, et les seconds, 4,9% de P et 6,3% de N. Notons en passant que la phosphatase intestinale de l'enfant a, selon cet auteur, plus d'action sur les peptides de lait de vache que sur ceux de lait humain.

2° Composition élémentaire :

La caséine contient du C, H, N, S, P et O. La composition centésimale fondamentale qu'en donne HAMMARSTEN [21] est la suivante : C = 52,96 ; H = 7,05 ; N = 15,85 ; S = 0,72 ; P = 0,85

et $O = 22,77$. Des nombreux auteurs ont, depuis, signalé une composition légèrement différente. Le désaccord concerne plus particulièrement les teneurs en azote, en soufre et en phosphore. Il provient des techniques utilisées dans la préparation et la purification de la caséine, techniques dont certaines ne sont pas sans exercer une action dénaturante susceptible d'entamer l'intégrité de l'édifice moléculaire du protéide qui, d'autre part, n'est pas toujours entièrement déminéralisé.

Pour illustrer les variations de composition élémentaire qu'il est possible d'observer dans une caséine provenant d'un même lait, mais préparé selon des techniques différentes, nous empruntons à MELLANDER [37], les données récentes ci-après :

Technique de purification	Composition centésimale					
	C	H	N	P	S	O (par diffé- rence)
Hammarsten (ac. acétique + alcool- — éther)	52,96	7,05	15,85	0,85	0,72	22,78
Linderstrom-Lang (HCl + alcool)	53,33	7,04	15,65	0,83	0,72	22,98
Sandelin (oxalate de K + HCl + alcool)	52,97	6,98	15,66	0,76	0,80	22,52
Ramsdell-Withier (ultra-centrifugation)	52,88	7,00	15,51	0,79	0,77	23,05

L'intensité hydrolytique variable, qu'exercent les réactifs propres à chaque procédé pourrait être à l'origine de ces écarts. Les différences caractéristiques des teneurs en soufre s'expliqueraient par des pertes en méthionine ou en cystine, que sont susceptibles d'entraîner les précipitations successives de la caséine. En effet, JONES et GERSDORF [27] rapportent qu'un produit final résultant de cinq préparations successives, d'une préparation initiale de caséine renfermant 0,336% de cystine, ne contient plus que $1/10^e$ à peine de cette concentration. MELLANDER [37], croit en outre, que, dans le cas de composés riches en soufre, ce dernier élément peut précipiter en même temps que le produit.

3° Nature des groupements structuraux :

Les chaînes peptidiques, de la caséine, qui fait partie de protéides corpusculaires ou globulaires, se présentent en arrangements compacts, dont les détails de structure sont actuellement, pour la plupart, encore méconnus. L'orientation de ses groupes polaires, semblable à celle des autres protéines [13], permet de distinguer avec MEUNIER [38] : une eau liée chimiquement par les groupes polaires, une eau osmotique, qui se forme au cours du traitement de

la caséine par un acide ou un alcali et dont l'apparition serait due à un ajustement de l'équilibre de DONNAN, une eau, enfin, retenue mécaniquement entre les chaînes repliées. Cette structure explique la fragilité de l'édifice moléculaire de ce protéide sous l'effet de l'action dénaturante, qu'exercent sur elle les réactifs chimiques, même de faible concentration.

Comme tous les protéides, la caséine fournit après hydrolyse, un mélange d'acides aminés, mais également de l'acide orthophosphorique et un sucre que SORENSEN et HAUGAARD [62], considèrent être du galactose. Un aperçu hypothétique de la structure de la caséine, basé sur le contenu du protéide en acides aminés, a été formulé récemment par EILERS et col. [16]. Prenant pour modèle une molécule de caséine possédant 1.000 atomes de N, les auteurs tracent un schéma grossier des constituants et des groupes réactionnels qu'elle pourrait renfermer.

Ils considèrent que 788 constituants d'une telle molécule, possédant 763 groupes aminés ou iminés susceptibles d'être liés dans des chaînes peptidiques naturelles, ont été identifiés à l'heure actuelle. 840 groupes carboxyles sont connus d'autre part. De sorte que le modèle en question posséderait 77 groupes carboxyles libres, de différente force, englobant les groupes forts d'acides libres qui correspondent aux 24 molécules d'acide phosphorique et les 29 groupes faibles phénoliques de la tyrosine. Le schéma fait ressortir en outre la présence d'un maximum de 23 groupes fortement basiques d'arginine, de 14 faiblement basiques de lysine et de 21 très faiblement basiques d'histidine.

Le contrôle de cette conception structurale théorique de la caséine, effectué par un dosage avec du NaOH/O, 1 N en milieu formolé, concorde avec les données rapportées par SANDELIN [61], établissant que la solution de un gramme de caséine additionnée d'un excès d'aldéhyde formique en présence de phénol phtaléine, devient acide et exige pour sa neutralisation, 5 cm³ 25 de réactif sodique.

La vérification de l'hypothèse en question, entreprise d'autre part à l'aide des dosages analogues à ceux employés lors de ses recherches par LINDERSTROM-LANG [34], montrant que la neutralisation de l'hydrolysât d'un gramme de caséine sèche, titrée en solution acétonique et en présence de thymol-phtaléine, nécessite 111 cm³ de NaOH/O, 1 N, fournit également à EILERS un argument favorable à sa conception structurale de la caséine. (On sait que, dans ce titrage, au point où se produit le virage, la lysine n'intervient pas, tandis que le groupe guanidinique de l'arginine réagit comme base; il s'ensuit que le groupe phénolique de la tyrosine doit être compté en tant qu'acide.)

Ayant établi, par ailleurs, que la molécule d'acide phosphorique réagit avec 2,7 molécules d'alcali, EILERS considère que la méthode ci-dessus permet de déterminer les groupes carboxyles des acides aminés plus les groupes phénoliques de la tyrosine, plus 2,7 fois le nombre de molécules d'acide phosphorique, moins le groupe guanidinique de l'arginine. Ceci indiquerait qu'un modèle de molécule de caséine à 1.000 atomes de N, contenant 75 groupes non encore identifiés, possède au total 971 groupes acides.

En opérant le titrage des groupes basiques de l'hydrolysate de caséine en solution acétonique, avec du rouge de naphthol comme indicateur, l'auteur trouve un nombre de 927 groupes.

L'excès des groupements carboxyles libres sur les groupes basiques, qui caractérise la caséine, lui communique des propriétés d'anions expliquant la formation par cette substance, à l'état natif dans le lait de vache, de complexes avec les ions Ca et P, et parfois aussi avec le K (dans le lait de femme). Nous étudierons ultérieurement ce point.

On connaît actuellement peu de choses concernant la nature de groupes terminaux de la molécule de caséine. Les travaux relativement récents effectués par ROCHE et MOURGUE [59], font constater que la papaïne, dont l'action est à la fois endo et exopeptidique, libère de la caséine la quasi totalité de la leucine et seulement une toute petite quantité de valine, tandis que la pepsine, dont l'activité est uniquement endopeptidique, libère par contre très peu de leucine et d'importantes doses de valine. Ces auteurs croient donc que la leucine pourrait être considérée en tant que chaîne terminale du polypeptide de caséine.

MILLION, KORN et HOOVER [39], suggèrent, que la lysine pourrait constituer un acide aminé terminal de la substance.

Signalons, en passant, que WOOLEY [74], est parvenu à isoler de la caséine soumise à une digestion tryptique, un tripeptide, la « strepogenine », qui serait un facteur de croissance. Notons incidemment enfin, que WARNER et POLIS [71], signalent la présence dans la caséine, d'une protéase, particulièrement thermolabile, qu'un pH élevé rend inactive. Cet enzyme hydrolyse lentement les solutions de caséine dont il diminue la viscosité. On ignore encore si cette protéase est le produit de la sécrétion mammaire ou de l'activité des éléments bactériens.

B. Propriétés physiques.

1° Poids moléculaire des micelles :

Les données concernant le poids moléculaire de la caséine que

rapporte la littérature, accusent de grandes divergences. Celles-ci s'expliquent par le fait que les méthodes de préparation de ce protéide influent considérablement sur les constantes de sédimentation observées et servant au calcul du poids moléculaire. Il a été en outre démontré depuis peu [63], que la présence, dans une solution de caséine, de très légères quantités d'ions calcium, est également susceptible de faire varier sensiblement ces mêmes constantes.

Pour une caséine extraite selon la technique de VAN SLYKE et BAKER ou par le procédé de HAMMARSTEN, et polydispersée dans une solution saline de concentration 0,017 molécule, certains auteurs [64], trouvent une constance de sédimentation de $5,6 \cdot 10^{-13}$ et un poids moléculaire de 75.000 à 100.000 pour le principal constituant. Mais les particules sont de tailles différentes et leur poids micellaire peut varier de 75.000 à 375.000. PEDERSEN [51], qui opère avec des solutions dont la concentration saline est de 0,25 molécule, en présence d'un tampon de phosphates, observe une constante de sédimentation de $12 \cdot 10^{-13}$, tandis que BURK et GREENBERG [1], qui emploient une caséine polydispersée dans une solution d'urée, dont la concentration est de 6,66 molécules, enregistrent un poids moléculaire de 33.000.

2° Solubilité:

Une caséine non dénaturée partiellement par séchage avec alcool et éther, est soluble dans l'eau à 25° C., dans les limites de 0,20 à 2,01 %. A son point isoélectrique, la solubilité n'est toutefois que de 0,11 %. Si le séchage entre 80° et 100° diminue sa solubilité, le traitement à l'alcool et à l'éther la rend totalement insoluble dans l'eau.

Insoluble dans l'alcool pur, dans l'éther et les solvants organiques, elle se solubilise par contre dans l'alcool chaud étendu à 50°, qui la décompose légèrement, et dans un excès d'alcali, en présence de chlorure de sodium. La caséine hydratée est totalement solubilisée par des solutions diluées d'acides minéraux et organiques (acides formique, acétique et lactique), dont la concentration optima est de 0,01N. Les fortes concentrations acides l'hydrolysent partiellement. Elle est également soluble dans des solutions aqueuses de sels neutres, mais la quantité solubilisée varie avec le degré de dissociation hydrolytique de ces sels.

Les acides précipitent la caséine en solution, à son pH isoélectrique, qui est d'environ 4,6.

C. Techniques de séparation et de purification de la caséine globale.

Toutes les techniques chimiques de préparation de la caséine

sont basées sur les propriétés de solubilité et de précipitabilité que nous venons d'exposer. La qualité et la pureté du produit dépendent beaucoup de la nature des réactifs utilisés. Nous n'exposerons ici que deux méthodes applicables au lait de vache. Soigneusement exécutées, celles-ci fournissent, d'après MELLANDER [37], une caséine pratiquement débarrassée de cendres et dont les propriétés sont parfaitement reproductibles.

1^o *Technique de LINDERSTROM-LANG modifiée par MELLANDER [37] :*

4 litres de lait frais non pasteurisé et délipidé par centrifugation à 3.000 t/min. sont additionnés goutte à goutte, de 3 litres de HCl/0,05N à la vitesse d'un litre par heure. La concentration en ions H du mélange porté à la température ambiante et agité mécaniquement, est surveillée à l'aide d'une électrode de verre. On arrête l'addition de HCl dès que le pH atteint 4,6. Le précipité de caséine est alors recueilli et lavé cinq fois par centrifugation avec 6 litres d'eau à chaque reprise. Il est dispersé dans 2 à 3 litres d'alcool à 60° et agité mécaniquement durant une demi-heure. Ce traitement est répété pendant trois heures avec de l'alcool à 96°. Remise ensuite en suspension dans 2 litres d'alcool à 99°, la caséine est laissée pour la nuit au frigidaire et lavée le lendemain trois fois à l'éther par centrifugation (2 litres d'éther pour chaque lavage). Elle est ensuite étendue sur du papier filtre et laissée pendant deux heures à la température ambiante, puis séchée *in vacuo* à 40° pendant une semaine. Le rendement est de 115 à 145 grammes de caséine pure.

2^o *Technique de SANDELIN [61] :*

5 litres de lait écrémé frais additionnés de 274 cm³ d'une solution d'oxalate de potassium à 10%, sont mis au frais pour la nuit. Le précipité d'oxalate de Ca est éliminé par centrifugation le lendemain, et le lait dilué avec 10 litres d'eau distillée est alors additionné de HCl/0,05N de la même façon que dans le procédé de LINDERSTROM-LANG. La caséine du mélange précipitée au pH 4,6 est recueillie à la centrifugeuse et lavée dix fois avec de l'eau distillée saturée de chloroforme (2 litres et demie d'eau à la fois). Elle est ensuite finement divisée et laissée au repos durant la nuit, dans de l'eau distillée. La suite du traitement fait avec de l'alcool et de l'éther est en tous points analogue à celui décrit dans la précédente méthode. Le rendement est sensiblement le même.

Pour la préparation de caséine de lait de femme, d'autres procédés légèrement différents sont recommandés.

II. Structure et constitution de la caséine native. Conditions de formation de complexes avec le calcium et le phosphore.

Nous avons signalé précédemment que l'excès de carboxyles acides libres sur les groupements basiques, explique les propriétés d'anions de la caséine qui, à l'état natif dans le lait, se rencontre seulement sous forme de sel.

On sait qu'en essayant d'isoler la caséine du lait par des sels neutres en excès, HAMMARSTEN a constaté que sa précipitation entraîne en même temps celle du calcium et du phosphore, dans un rapport $\text{Ca/P} = 1,9$, qui est le même que celui du phosphate tricalcique. Ce dernier étant insoluble se trouverait par conséquent à l'état colloïdal mêlé aux micelles de caséine. VAN SLYKE et BOSWORTH [69] trouvent, par contre, dans les dépôts de lait centrifugé, un rapport de $\text{Ca/P} = 1,2$, qui correspondrait à du phosphate bicalcique. Une autre partie du phosphore et du calcium colloïdal rencontré dans le lait, s'y trouverait à l'état cristalloïdal.

PORCHER s'accorde avec ces auteurs pour affirmer, que la caséine participe dans le lait à une combinaison chimique sous forme de caséinate de calcium, qui protégerait les phosphates de Ca maintenus en suspension colloïdale, dans des associations lâches beaucoup plus physiques que chimiques.

BEAU [2] s'inspirant des conceptions formulées antérieurement par DUCLAUX [14] et par LINDET [33], admet que la caséine se trouve liée dans le lait aux ions Ca et P sous une forme électro-colloïdale. Il s'agirait, selon cet auteur, plutôt d'un complexe physico-chimique : caséine + acide phosphorique ou caséinate de calcium + phosphate de calcium, que d'une combinaison chimique véritable de phosphocaseinate de calcium. Nous discuterons ultérieurement les récentes théories émises au sujet du mode de liaison du phosphore et du calcium avec la micelle de caséine. Mais, pour mieux saisir les conditions de formation des complexes salins de la caséine, nous croyons utile de procéder d'abord à la caractérisation de la courbe de titration de celle-ci.

A. Courbe de titration de la caséine.

On sait qu'à chaque valeur de pH , une protéine peut se combiner à une quantité différente de base ou d'acide. Par ce fait, la détermination du point de neutralisation d'une protéine au moyen d'un indicateur, qui est en réalité un ajustement à un pH arbitraire, ne fournit donc pas une base correcte d'appréciation de sa capacité associative à un acide ou à une base. D'autre part, le pH trouvé après addition d'une certaine quantité d'acide ou de base à une solution de protéine, dépend également des sels présents dans le

milieu, quoique ces derniers ne paraissent pas exercer eux-mêmes d'action tampon [60].

Il s'ensuit que la courbe de titration obtenue par addition d'une base à une solution de caséine en suspension, diffère sensiblement de celle enregistrée lors du titrage d'une solution alcaline de caséinate. Certains auteurs voient la cause de ce phénomène dans un ajustement de l'équilibre de Donnan entre ions de la phase aqueuse, située à l'extérieur de la particule colloïdale, et celle retenue à l'intérieur, dont les concentrations diffèrent considérablement, surtout dans un milieu pauvre en électrolytes.

Comparant la courbe de titration de la caséine avec celle d'autres protéines telles que les prolamines par exemple, HOFMANN et GORTNER [28], insistent sur la liaison relativement forte de l'alcali dans l'intervalle de pH compris entre 5,5 et 7,0, intervalle que DAVIES [10], trouve correspondre à celui dans lequel la fonction acide secondaire de l'acide phosphorique est neutralisée. DE KADT [11] par contre, attribue une partie considérable de l'acidité de la caséine aux deux acidités de l'acide phosphorique, restées libres après que celui-ci ait été lié par estérification aux groupements hydroxyles d'un composé tel que la serine. D'autres cependant [49-50], qui effectuent le calcul des groupements acides de la caséine, considèrent comme négligeable le rôle de ceux provenant des esters phosphoriques.

La plupart des auteurs admettent donc qu'il est difficile, dans ce cas, de se faire une idée correcte des conditions de formation de sels de caséine et que la détermination des constantes de dissociation d'un sel faiblement dissocié, tel que l'est le caséinate de calcium dans le lait, reflète avec beaucoup plus d'approximation, le phénomène.

B. Constantes de dissociation du caséinate de Ca.

Les premières données en la matière, sont rapportées en 1936, par WEIR et HASTINGS [73], qui trouvent une constante de dissociation de $10^{-2,23}$. Depuis, CHANUTIN et collaborateurs [8] ont eu recours à l'ultra-centrifugation pour étudier la combinaison des ions de Ca avec la caséine. Ces auteurs trouvent que la liaison calcium-caséine obéit à la loi d'action de masse et que, dans l'intervalle de pH 6,3-8,5, la constante de dissociation du caséinate de Ca est indépendante de la concentration en protéide ou en calcium. Cependant, KLOTZ [29] qui, pour représenter la liaison de la caséine avec les ions Ca, se livre à des calculs au moyen d'équations, en conclut qu'il y a lieu de faire intervenir au moins seize constantes de dissociation pour décrire cette combinaison.

C. Modes de liaison de la caséine avec les éléments minéraux du lait : les complexes de phosphocaséinate de calcium.

Malgré le grand nombre de travaux consacrés ces dernières années à l'étude du mode de liaison des phosphates et du calcium avec la caséine, la question présente actuellement beaucoup d'inconnues et est encore très controversée.

HOSTETTLER et collaborateurs [24], parviennent à séparer par centrifugation, les micelles de la caséine d'après leur taille, et les analysent. Les particules fines contiendraient moins de Ca et de P que les grosses. D'après les recherches de HOSTETTLER et RUEGGER [25], le calcium présent dans les particules se trouverait lié à la caséine de deux manières : par une liaison ionogène avec les groupements carboxyles (sels) et par une autre, celle-là complexe, avec les groupements aminés des acides aminés amphotères (« zwitterions ») de la molécule de caséine.

DE KADT et VAN MINNEN [12], se sont livrés à une étude très approfondie de l'état du complexe natif caséine-sels minéraux. Ils séparent le phosphocaséinate de calcium à partir de lait écrémé, à l'aide de la supercentrifugeuse Sharples, et ne constatent pas de différence sensible entre la composition chimique de la caséine ainsi isolée et celle obtenue par précipitation aux acides.

Selon ces auteurs, le calcium du complexe est lié à la caséine sous forme de caséinate de calcium d'une part et de phosphate tricalcique (non pas dicalcique) d'autre part. Le rapport moléculaire Ca/PO_4 trouvé, qui est de $3/2$, est interprété comme indiquant que le phosphocaséinate de calcium doit être considéré, soit en tant que complexe simple : $\text{Ca}_3 - \text{PO}_4 = \text{Ca} \dots \text{Ca}_3 (\text{PO}_4)_2$, soit en tant que composé :

Le rapport entre phosphate inorganique et caséinate n'est toutefois pas constant.

Cette interprétation rejoint l'opinion formulée antérieurement par PYNE [53], selon laquelle, dans le complexe caséinate de Ca-phosphate de Ca, le phosphate se trouve à l'état de sel tricalcique.

Les résultats des recherches contemporaines effectuées sur le même sujet par RAMSDELL et WHITTIER [56], concordent en tous points avec ces conclusions. Le taux de phosphore inorganique trouvé par ces auteurs dans le complexe de phosphocaséinate de calcium, isolé également par ultra-centrifugation, était de 4,80%, exprimé en phosphate tricalcique, et celui de caséinate de Ca, — de 95,20%. En effectuant le calcul en phosphate dicalcique,

les taux sont de 4,21 % pour le phosphate et de 95,79 % pour le caséinate. Cette dernière fraction contient 1,18 % de Ca. Or, ces auteurs enregistrent un accroissement de l'alcalinité du complexe à la suite d'une addition d'oxalate de potassium. L'abaissement du degré titrimétrique étant dû très probablement à la transformation du phosphate tricalcique neutre colloïdal en phosphate tripotassique soluble ayant une réaction alcaline, ceci indiquerait que le phosphore inorganique inclus dans le complexe est de nature tribasique et non pas dibasique.

Ces résultats sont donc nettement en opposition avec la thèse formulée il y a longtemps par VAN SLYKE et BOSWORTH [69], que nous avons déjà citée.

TER HORST [65], qui étudie l'absorption de ions inorganiques par la caséine, au moyen de la technique de supercentrifugation, reproche toutefois à celle-ci de fractionner le caséinate en particules différant nettement par leur teneur en phosphore organique, fait qui contribuerait à fausser l'interprétation des résultats. Il estime, en outre, que la caséine est également susceptible de se lier aux ions Na, même en présence d'un large excès de ions Ca. Des liaisons possibles avec des ions K et Mg sont aussi supposées par d'autres chercheurs.

Discutant ailleurs de l'équilibre phosphate-caséinate, ce même auteur [66] est d'avis qu'il n'existe actuellement, pas de preuves convaincantes en faveur de l'existence d'une liaison chimique ou physique entre le phosphate de calcium colloïdal et la caséine. VAN DEN BURG [68], croit par contre à la possibilité d'une liaison chimique, et suppose que les ions PO_4^{3-} seraient fixés par les groupements aminés de la lysine, tandis que les groupements carboxyles libres de la caséine fixeraient le calcium. Ce dernier auteur partage donc l'avis de PYNE [54] qui, après avoir examiné au polarographe des complexes de phosphocaséinates de baryum obtenus par traitement d'un caséinate alcalin de Ba avec une solution de $\text{Ba}(\text{PO}_4\text{H}^2)^2$, pense que les groupes aminés libres de la caséine joueraient un rôle dans l'association protéide-phosphate de baryum (ou de calcium).

D. Etat de dispersion du complexe phosphocaséinate de Ca dans le lait, dimension et forme de ses particules.

On sait que le phosphocaséinate de calcium natif, se trouve dans le lait, à l'état de particules poly-dispersées.

NITSCHMANN [46], puis NITSCHMANN et GUGGISBERG [47], qui ont tenté de déterminer, entre 1938 et 1941, la forme et la dimension des particules de caséinate de sodium, par les méthodes de birefringence d'écoulement et de mesure de viscosité, attribuent

à celles-ci une forme de bâtonnets dont le rapport axial a/b serait de 8,7 et la longueur de 290 Å. EDSALL [15] rapporte, peu de temps après, des longueurs de 2.200 Å, mesurées également par la technique de birefringence, pour des particules de caséinate de sodium en solution de SO_4Na^2 , de concentration 1,6 molécule. Ces différences considérables proviendraient de ce que, dans ce dernier cas, des agrégats moléculaires de caséine se sont formés. On sait en effet, depuis très peu de temps [45], que dans des solutions aqueuses, la caséine tend à former des associations complexes et réversibles, dans lesquelles plusieurs molécules s'agrègent en micelles plus ou moins volumineuses.

La première étude de la forme et des dimensions des particules de caséinate de calcium à l'état natif, dans du lait écrémé, dilué avec du sérum ultrafiltré, est due à NICHOLS et collaborateurs [42]. Recourant à l'ultra-centrifugation pour déterminer la vitesse de sédimentation par la mesure de densités optiques, ces auteurs remarquent que les particules de caséinate natif sont de forme sphérique et ont un diamètre variant de 8 à 200 μ . ; les fréquences maxima se situant entre 115 et 130 mm. à l'état hydraté et entre 80-90 μ . à l'état sec.

Mais la technique de microscopie électronique, qui semble convenir tout particulièrement à l'examen de l'aspect poly-dispersé du caséinate natif, a permis depuis peu une énumération et une mesure directe plus précises des particules de ce complexe. Cette technique présente toutefois une grosse difficulté, notamment celle du choix d'un diluant approprié.

Selon NITSCHMANN [44], qui est le premier à utiliser cette technique, l'eau distillée est impropre à un tel emploi, car elle influe sur la dispersion des particules et réduit, en outre, avec le temps, l'opalescence du lait écrémé ainsi dilué. On sait par ailleurs, qu'il est possible de transformer une caséine grossièrement dispersée dans le lait, en état de solution moléculaire, lorsqu'on prive le système maintenu à un pH constant, de ses ions de Ca (addition de citrate, par exemple).

L'auteur ci-dessus préconise par conséquent l'emploi, soit d'un diluant tel qu'une solution de $\text{CaCl}_2/0,1N$ additionnée au lait écrémé dans un rapport de 200 : 1, soit une dilution avec de l'eau distillée dans un même rapport, dilution opérée seulement après une addition au lait écrémé de 0,4-0,8% d'aldéhyde formique qui permet la fixation des particules et empêche leur dissociation.

L'application de cette technique d'examen avec le microscope électronique, fait confirmer à NITSCHMANN les données apportées par NICHOLS au sujet de la forme sphérique des particules du caséinate natif poly-dispersé dans le lait, et la plus grande fréquence de

leur diamètre dans des dimensions comprises entre 80 et 120 μ .

Les mesures des vitesses de sédimentation du phosphocaséinate de calcium colloïdal effectuées la même année, font constater également à FORD et RAMSDALL [17], la forme sphérique des particules.

En 1951 enfin, HOSTETTLER et IMHOF [26] qui, employant la technique électronique, concluent dans le même sens, affirment en outre que le degré de dispersion des particules de caséinate natif est très variable d'un individu à l'autre et qu'il existe des différences sensibles entre les laits des diverses espèces animales ; les micelles d'un lait de chèvre sont plus grossièrement dispersées que celles d'un lait de vache, alors que celles d'un lait de femme sont finement divisées. Le degré de dispersion du caséinate natif peut être modifié en faveur de petites particules, sous l'effet de troubles organiques généraux ou de maladies de la glande mammaire. On ne sait par contre pas actuellement dans quelle mesure la race, le stade de lactation et l'état de nutrition du sujet, sont susceptibles d'influer sur l'état de division des micelles de caséine dans le lait.

(A suivre.)

« OVERRUN » : L'ARTÈRE VITALE DE LA BEURRERIE CANADIENNE

par

A. C. F. KRUIJER

INTRODUCTION

De nos observations et travaux dans les beurreries canadiennes nous voulons présenter quelques impressions risquant d'être utiles à des industries laitières françaises.

Le principe de la fabrication du beurre ne diffère guère de la méthode européenne : refroidir la crème et la garder suffisamment longtemps à une température basse avant le barattage. Comme nous le savons, ce traitement thermique est d'importance, pour l'obtention d'un beurre de bonne consistance, laissant un minimum de matière grasse dans le babeurre.

Des complications surgissent, dues aux conditions pénibles de ramassage de la crème sur de grandes distances (200 km. et plus n'est pas extraordinaire). La crème arrivant souvent à l'état acide, doit être neutralisée (par le bicarbonate de soude à une température de 35° C.), avant la pasteurisation, exigée par la loi, qui s'effectue généralement à 85° C. pendant quelques (!) minutes.

On distingue trois genres de beurres : « cultured butter »,