

de la matière grasse a été présentée et on la trouvera plus loin, ainsi qu'une partie de la note de M. Choll t relative au dosage de l'humidité, des cendres et de la matière grasse qui rappelle les méthodes publiées en 1909 par la *Revue Générale du Lait*.

Comme la question est d'un réel intérêt, nous publions également un travail de M. A. Tapernoux sur l'analyse des caséines industrielles.

Ch. PORCHER (1).

LES BASES SCIENTIFIQUES DE LA DÉTERMINATION DE L'ACIDITÉ DES CASÉINES

par M. Ch. PORCHER

et

M^{lle} J. BRIGANDO

Professeur à l'Ecole Vétérinaire
de Lyon

Préparatrice à l'Institut des Recherches
agronomique

Quand on lit ce qui a été écrit sur l'analyse des caséines, que ce soit dans des communications ou des rapports insérés dans les Comptes-rendus de Congrès ou dans les ouvrages, récents ou non, on est surpris de la confusion qui est trop souvent faite entre la *caséine acide* et la *caséine-présure*.

Les auteurs sont amenés à établir des différences qui ne sont pas sans s'imposer, mais il ne semble pas toujours que celles-ci soient expliquées à leur tour par la différence profonde des processus qui interviennent dans la fabrication de ces deux caséines et par le jeu des contingences qui en entourent le développement.

Dans la conférence que l'un de nous a faite en 1927 à la *Société de Chimie Industrielle*, ces contingences ont été relevées. Elles tiennent à la fraîcheur ou à l'acidité du lait, à la rapidité ou la lenteur avec laquelle l'emprésurage ou la précipitation acide de la caséine ont été effectués, au soin que l'on apporte lors du rompage quand il y a coagulation en bloc, lors du brassage quand il s'agit d'acidification provoquée, à la température à laquelle s'effectue la précipitation de la caséine acide, au chauffage du grain, etc.

Aujourd'hui, notre intention est de faire comprendre certaines des particularités de l'analyse des caséines, mais, pour ce, il importe d'abord de savoir théoriquement ce que sont la *caséine acide* et la *caséine-présure* et d'examiner ensuite, dans l'obtention de l'une et de l'autre, le jeu de l'acidité.

La question qui a été posée au *Congrès de l'Avancement des Sciences* à la Rochelle vise uniquement l'analyse des caséines industrielles ; il ne

(1) Vu l'abondance des matières, ce numéro ne comprendra que la moitié environ de documents cités ci-dessus.

saurait donc s'agir de caséines préparées au laboratoire. Mais, encore une fois, il est indispensable d'étudier dans le détail les processus qui interviennent pour nous expliquer les différences profondes que l'analyse nous apporte. Pourquoi ces différences et comment sont-elles ? Voilà toute la question.

La caséine acide peut être obtenue avec des laits qui ne sont pas « frais », voulant dire par là, au point de vue industriel, que les laits travaillés sont déjà acides, c'est-à-dire le siège d'une fermentation lactique en train de se développer. La préparation ne consistera qu'à laisser s'exagérer cette acidité, amorcée par les ferments lactiques, jusqu'au point où l'on obtient la précipitation de la caséine.

A priori, le fait pour l'industriel qui prépare de la caséine acide, — qu'elle soit d'*acidification spontanée* (caséine lactique) ou d'*acidification provoquée* par l'acide acétique, l'acide sulfurique, l'acide chlorhydrique, etc. — de travailler sur un lait déjà fortement acide est sans inconvénient. La caséine se trouve dans le lait sous forme de caséinate de calcium associé à des phosphates bi- et tricalciques. L'acide lactique dont le taux va graduellement en augmentant solubilise les phosphates insolubles de calcium sous forme de phosphate monocalcique et entreprend la décalcification du caséinate. Théoriquement, nous aurons à la fin, à côté de la solubilisation totale des phosphates de calcium, une précipitation de caséine pure. En fait, les choses sont moins simples que cela et pour le comprendre, nous devons faire intervenir la notion du point isoélectrique de la caséine lequel se traduit par un $\text{pH} = 4,6 - 4,7$. A ce point, la caséine n'est combinée ni aux acides ni aux bases, elle est théoriquement pure, sans aucune charge saline. Mais avant d'y arriver, alors que le pH n'est encore que de $5,2 - 5,3$ environ, nous obtenons par acidification du lait un précipité dont la nature est aujourd'hui fixée.

Tous les auteurs qui, à la lumière des données nouvelles sur l'acidité actuelle, ont cherché à examiner de près les conditions de la coagulation acide du lait, qu'il s'agisse encore une fois de coagulation spontanée ou de précipitation provoquée par un apport acide, ont constaté que lorsque le premier précipité se forme, le pH de la liqueur = $5,2 - 5,3$. Cosmovici signale le fait, et nous-mêmes l'avions noté dans notre laboratoire il y a plusieurs années déjà. Il correspond à un caséinate très fortement décalcifié, dont la quantité de CaO pour 1 gr. de caséine répond à $11,25 \times 10^{-5} \frac{\text{N}}{10}$ L.L. van Slyke et A.W. Bosworth, en effet, ont noté, avec d'autres d'ailleurs, que la caséine est susceptible de donner de nombreux sels calciques, et que leur solubilité dans l'eau sous forme micellaire n'est acquise que pour une certaine quantité de chaux dans le caséinate ($22,50 \times 10^{-5} \frac{\text{N}}{10}$ pour 1 gr. de caséine); en dessous de cette quantité, le caséinate est insoluble.

Sans se demander ce que peut valoir la terminologie de Van Slyke

et Bosworth qui reconnaissent des caséinates mono-, bi-, tétra-, etc... calciques, retenons que le caséinate dit monocalcique dont le pH = 5,2 — 5,3 est insoluble dans l'eau.

Par conséquent, quand nous acidifions le lait avec précaution, lentement tenagitant vigoureusement, ou quand le lait s'acidifie spontanément, le premier précipité qui se forme n'est pas de la caséine théoriquement pure. C'est encore un caséinate calcique. Lorsque nous agiterons la masse en la chauffant, nous exagèrerons l'acidité du milieu, parce que nous favoriserons la dissociation des molécules acides et parallèlement la libération de nouveaux ions H. Ce faisant, nous tendons à décalcifier encore le caséinate mono-calcique qui a précipité ; mais, il n'est pas toujours certain que nous y arrivions entièrement. Nous y parviendrons si nous laissons la fermentation lactique se parfaire et se rapprocher par son pH du point isoélectrique de la caséine 4,6 — 4,7, et dans le cas des caséines d'acidification provoquée, si l'apport acide va jusqu'à ce pH.

Si l'on ne prend pas cette précaution, si allant trop vite, on brise le caillé lactique trop tôt, alors que le pH 4,6 est loin d'être atteint, nous obtiendrons bien une caséine *industrielle*, mais elle sera chargée de chaux, puisque c'est plutôt un caséinate monocalcique que nous aurons préparé. Et nous ne parlons pas pour l'instant des sels que le produit fabriqué contiendra du fait que ses flocons auront occlus du sérum, et avec celui-ci, les matières minérales qu'il contenait. On n'attache peut-être pas assez d'importance, croyons-nous, à cet englobement purement mécanique des sels du lait et de l'acide qui a servi à la préparation, au sein des flocons de caséine. Et c'est justement l'examen attentif des contingences que nous relevions au début de cette étude qui nous a montré les soins qu'il fallait prendre pour se débarrasser des matières salines notablement entraînées avec la caséine toutes les fois que la précipitation est brutale, rapide, que le rompage est mal fait, que le chauffage n'est pas effectué avec les précautions nécessaires. On comprend, en effet, que des matières salines : chaux et acide phosphorique notamment, soient retenues à l'intérieur des flocons ; et un lavage ne les en débarrassera pas entièrement. Dans ces conditions, est-on en droit de dire que les matières salines trouvées à l'analyse appartiennent en propre à la caséine et qu'elles doivent figurer dans une formule que l'on s'efforcerait de donner au produit fabriqué ? Evidemment non. Il ne s'agit là que d'impuretés, mais impuretés qu'il fallait situer exactement pour en avoir la signification.

Il est important dans la préparation de la caséine acide d'être renseigné sur l'acidité obtenue à la fin de la précipitation, et c'est parce que les recherches scientifiques ont montré tout l'intérêt qui s'attache à l'obtention du point isoélectrique lors de la préparation de la *caséine*

acide que l'on a vu l'industrie s'efforcer d'utiliser une donnée aussi précieuse, ce qui est d'ailleurs facile. Mais, encore une fois, arriverait-on au pH : 4,6-4,7, dans l'obtention de la *caséine acide* qu'on n'est pas assuré pour cela d'obtenir un produit tout à fait pur et déminéralisé. Dans la pratique, il n'est d'ailleurs pas possible d'obtenir une caséine aussi peu chargée en matières minérales que celle que l'on prépare au laboratoire avec beaucoup de labeur.

S'il faut tendre à un pH : 4,6-4,7, il faut parallèlement, s'assurer d'une bonne décalcification ; un brassage vigoureux permet d'y tendre, et c'est dans ces conditions que la caséine obtenue sera peu minéralisée.

La caséine pure est une espèce chimique toujours identique à elle-même. Mais, en face d'elle, se trouvent toutes les caséines acides du commerce dont la diversité, considérée uniquement au point de vue de leur charge saline, résulte de ce que l'industrie ne prend pas toujours les précautions nécessaires pour obtenir un bon produit.

La *caséine-présure* est tout autre. Elle l'est par la nature du processus qui conduit à son obtention et par certaines des contingences qui entourent celle-ci. Théoriquement, la caséine à la présure doit être préparée avec du lait frais ne possédant que son acidité normale. Si nous partons d'un lait qui n'est pas frais, qui est entamé déjà par une fermentation lactique, le produit que nous obtiendrons participera à la fois de la caséine-présure et de la caséine acide en se rapprochant d'autant plus de cette dernière que le lait originel était lui-même plus acide. Evidemment, l'acidité intervient sur l'emprésurage en le facilitant, mais c'est là une condition favorable qui ne doit pas être prise en considération pour la préparation de la *caséine-présure*, alors qu'elle est de toute importance pour la fabrication des fromages ; mais c'est qu'il s'agit ici de choses toutes différentes, et l'acidité acquise du lait, pour peu qu'elle soit accusée, est troublante, gênante pour l'obtention de produits neutres, comme la belle *caséine-présure*.

L'expression de *neutre* est ici tout à fait adaptée, car lorsqu'on étudie théoriquement la préparation de la *caséine-présure*, on peut dire que ce que l'on obtient est caractérisé par un pH très voisin de 7, c'est-à-dire de la neutralité réelle. Mais si théoriquement la *caséine acide* est dépourvue de matières minérales, la *caséine-présure* doit posséder une charge saline bien déterminée.

L'étude synthétique du lait à laquelle nous nous sommes appliqués depuis plusieurs années nous permet de comprendre ce qui se passe, lors de l'emprésurage et l'analyse des produits est d'accord avec nos vues. Nos recherches nous ont ramenés à la première conception de Hammarsten.

La présure transforme le caséinate de calcium en paracaséinate qui

précipite en entraînant avec lui les phosphates de calcium insolubles. La *caséine-présure* est en somme un mélange de paracaséinate calcique dont le pH est voisin de 7 et de phosphates calciques insolubles. Voilà pour le côté théorique. Mais les réserves que nous avons faites au sujet de la préparation de la *caséine acide* peuvent se répéter ici pour la *caséine-présure*. Il est certain que lors du rompage du caillé, si toutes les précautions ne sont pas prises, si le chauffage est plus ou moins brusque, non graduel, le grain de la caséine va entraîner mécaniquement des sels du sérum qui vont se fixer sur la trame du flocon primitif et s'ajouter aux matières minérales qui, régulièrement comme nous venons de le montrer tout à l'heure, appartiennent à la *caséine-présure*.

Les calculs dans lesquels nous n'avons pas à entrer ici nous montrent que les cendres de la *caséine-présure*, faites essentiellement de chaux et d'acide phosphorique représentent environ 7,20-7,50 % de la masse supposée anhydre. Pour la *caséine acide* pure, ce devrait être 0 % ; mais nous savons que les bonnes *caséines acides* contiennent toujours un chiffre de matières minérales de 1,5-2 %, quelquefois même plus.

A la faveur des développements dans lesquels nous sommes entrés tout à l'heure, il va nous être facile, d'une part, de comprendre pourquoi la *caséine acide* et la *caséine-présure* n'ont pas la même acidité, et d'autre part, d'expliquer les différences que les diverses caséines commerciales présentent.

Il faut d'abord s'entendre sur ce qu'on entend par acidité. Ici, ce n'est que d'acidité *titrable* dont il s'agit ; elle est déterminée en prenant comme révélateur la phtaléine du phénol.

Les recherches de nombreux auteurs ont montré que le nombre de cm³ de soude N/10 nécessaires pour dissoudre un gramme de caséine pure préparée au laboratoire, type essentiel de la caséine acide, de pH = 4,6, et amener le virage de la phénol-phtaléine au rouge est en chiffres rond de 9.

Le virage à la phtaléine du phénol se fait aux environs de pH = 8,2-8,3.

Si prenant 1 gramme de caséine, il faut, pour passer de pH = 4,6 à pH = 8,2-8,3, 9 cm³ de soude N/10, ce qui assure la solubilité de la caséine et le virage de l'indicateur coloré, pour 100 grammes, il en faudra 900 cm³. Si nous prenons la soude N/9 qui est celle qu'utilise Dornic pour le dosage de l'acidité titrable du lait, il ne faudra que 810 cm³. A ces 810 cm³, correspondent théoriquement 81° D. en acide lactique. Par suite, 100 grs d'une *caséine qui serait absolument pure et anhydre* auraient une acidité titrable correspondant à 8 gr., 10 d'acide lactique. Remarquons qu'il s'agit là d'une convention.

Il est évident que si la caséine dont on a déterminé l'acidité n'est pas pure, si elle est chargée d'humidité, — elle en a toujours, — si elle

contient des cendres, — et c'est toujours le cas, — elle doit avoir une acidité inférieure.

Par conséquent si nous voulons définir l'acidité de la caséine par titrimétrie avec le plus d'exactitude possible, il importe de tenir compte, d'une part, de l'humidité et d'autre part, de la charge saline, réelle impureté, c'est-à-dire de rapporter l'acidité au produit sec et déminéralisé.

Nous avons raisonné dans l'hypothèse où la caséine soumise à l'analyse est pure, et ne possède aucune acidité résiduelle. Or, le fait est rare, et pour les produits qui ne sont pas de premier choix, mal lavés, il y a toujours une acidité résiduelle faite d'acide lactique, s'il s'agit de caséine d'acidification spontanée, d'acide chlorhydrique, d'acide sulfurique, d'acide acétique, s'il s'agit de caséines préparées par précipitation provoquée.

L'acidité résiduelle qui se superpose ainsi à l'acidité propre de la caséine telle que nous venons de la définir est facilement soluble dans l'eau. Elle passera dans la macération aqueuse de la caséine, ce qui nous permettra sa recherche qualitative et son dosage ; nous saurons ainsi par quels procédés la caséine acide aura été préparée. Il est évident qu'une caséine acide impure, très minéralisée, trop humide, qui serait chargée d'une forte acidité résiduelle aurait par titrimétrie une acidité exagérée qu'il importerait de disséquer en acidité propre de la caséine et en acidité relevant de l'acide qui a servi à la préparation. Cette dissection exige le dosage séparé de l'acidité de la macération aqueuse. Mais on doit envisager le plus souvent que la caséine acide commerciale a une acidité plus faible que l'acidité théorique.

En effet, il résulte des développements dans lesquels nous sommes entrés, que si une caséine acide, lactique ou autre : chlorhydrique, sulfurique, etc. n'est pas pure et que son impureté tienne, pour une part, à ce qu'elle renferme de la caséine partiellement salifiée, c'est-à-dire un caséinate de faible charge calcique, il est certain que le pH du produit ne peut plus être 4,6-4,7. Il tend à se rapprocher de 7, et par suite, la quantité de soude nécessaire, compte tenu de l'humidité et de la charge saline, pour obtenir le virage de la phénol-phtaléine sera moindre et d'autant moindre que la caséine analysée sera plus chargée en matières minérales.

Poussons plus loin notre raisonnement ; il va nous amener à comprendre ce qu'il faut entendre par acidité de la *caséine présure*. Partons d'une caséine tellement salifiée par la chaux que son pH = 7 environ. En fait, ce ne serait plus une caséine, mais un caséinate que nous aurions, et pour aller du pH = 7 qui est celui du paracaséinate dans la *caséine-présure* au pH = 8,2-8,3 qui répond au virage de la phénol-phtaléine, il nous faudra encore une certaine quantité de soude, mais certes, il

nous en faudra beaucoup moins qu'avec la caséine pure, moins également que si nous étions partis d'une caséine moins fortement salifiée par la chaux.

Voici quelques calculs intéressants qui vont nous servir pour l'étude théorique de la détermination de l'acidité de la *caséine-présure*. Nous avons vu plus haut que 100 grammes de caséine pure ont une acidité correspondante en acide lactique à 8 gr., 10 vis à vis de la phénol-phtaléine. Si au lieu de partir de la caséine pure, nous partons d'une caséine partiellement salifiée, dont le $\text{pH} = 7$, voyons ce qu'il faut de soude traduite en degrés D. pour obtenir le virage à la phénol-phtaléine, en d'autres termes, ce qu'il en faut pour passer du $\text{pH} = 7$ au $\text{pH} = 8,2-8,3$.

Des recherches antérieures nous ont montré que 100 grammes de caséine pure exigent pour passer de $\text{pH} = 4,6-4,7$, point isoélectrique, au $\text{pH} = 7$ environ, une quantité de soude correspondant à 60° D. La différence entre les 81° D. ci-dessus et ces 60° D. est de 21° D. Autrement dit, un caséinate de $\text{pH} = 7$ environ a une acidité titrimétrique correspondant à 2 gr., 10 d'acide lactique pour 100. Or, cette acidité traduit exactement l'acidité de la *caséine-présure*. Une petite correction est cependant nécessaire, puisqu'il y a dans cette *caséine-présure* du phosphate tricalcique qui n'est pas partie intervenante.

Toutes les considérations qui précèdent, notamment celles qui sont relatives à la nature chimique de la *caséine-présure* nous permettent également de nous rendre compte de la différence de solubilité dans la soude des deux caséines. Quand nous partons de caséine pure, caséine acide par conséquent, nous obtenons facilement sa solubilisation avec les quantités de soude indiquées plus haut. Mais si nous avons de la *caséine-présure* pure, celle par exemple que nous pouvons obtenir du complexe : caséinate de calcium + phosphates de calcium, synthétiquement préparé, il nous faut évidemment moins de soude pour faire virer la phénol-phtaléine, mais il nous en faut beaucoup plus que dans le cas de la caséine acide pour dissoudre la *caséine-présure*, parce qu'avec celle-ci qui est un sel double de calcium : paracaséinate + phosphates, il faut une masse assez considérable de soude pour que la base alcaline se substitue à la chaux dans ce sel double et transforme paracaséinate et phosphates en sels sodiques correspondants.

SUR L'ACIDITÉ DES CASÉINES INDUSTRIELLES

par M. BEAU,
Ingénieur agronome

La question du dosage pratique de l'acidité dans les caséines industrielles comporte deux parties bien distinctes, l'une d'ordre purement industriel qui consiste à déterminer ce qu'on doit entendre par l'acide-