

2° *La Société Enighedén.*

C'est l'une des trois grandes laiteries commerciales de *Copenhague*, approvisionnant la capitale en lait de consommation. Son organisation ressemble beaucoup à celle de la *Danske Maelke Compagni*, qui a été longuement étudiée, aussi il ne sera dit que quelques mots de *Mejeriet Enighedén*.

Créée en 1898 sur l'initiative socialiste, dans le but de procurer aux ouvriers un lait de toute première qualité à un prix aussi modique que possible, la Société Enighedén, qui a subi des transformations successives pour se moderniser, occupe un vaste emplacement à Alexandravej, en bordure de Copenhague.

Elle traite journallement de 50 à 60.000 kilos de lait, fourni par une cinquantaine d'exploitations.

A titre de particularités, il faut signaler la présence d'un homogénéisateur à 4 cylindres horizontaux de construction danoise, et des bacs assembleurs de 5 à 6.000 kilos de lait conservant le lait à une température constante de 5 à 6°, et pourvus d'agitateurs ingénieux destinés à égaliser le lait et à empêcher la crème de monter ; sans la présence de ces agitateurs le lait situé au fond du bac serait moins riche que le lait de la partie supérieure.

La caractéristique de la Société Enighedén réside dans le soin tout particulier apporté au traitement du lait pour enfants, le « Bornemaek ».

Ce lait est produit à Lautrupgaard, dans une ferme appartenant à la société, et où tout est mis en œuvre pour recueillir un lait aussi pur que possible : un troupeau d'élite de la race rouge, soumis à la surveillance permanente d'un vétérinaire, et recevant une alimentation substantielle fournit le lait pour enfants.

Les soins apportés à la traite sont très particuliers (voir la réglementation du lait pour enfants) et le personnel est soumis à un contrôle médical constant, par les soins d'un docteur attaché à la maison.

Environ 2.000 kilos de lait pour enfants sont ainsi distribués tous les jours dans la capitale après traitement à la laiterie d'Alexandravej.

LA MÉTHODE SYNTHÉTIQUE DANS L'ÉTUDE DU LAIT LE LAIT AU POINT DE VUE COLLOIDAL RECHERCHES SUR LE MÉCANISME DE L'ACTION DE LA PRÉSURE

par Ch. PORCHER,
Docteur ès sciences physiques
(Suite)

CHAPITRE V

LES COMPOSÉS DE LA CASÉINE

La caséine, ainsi qu'il résulte de la préparation que nous en avons donnée dans le chapitre précédent et de diverses considérations dans lesquelles nous étions entré antérieurement, est bien une entité chimique

définie, ce qui laisse *a priori* sous-entendre qu'elle doit conduire à des composés également définis. Dans le but de donner à ceux-ci, au travers des approximations inévitables, une formule rationnelle qui tende vers la vérité, il importe, d'une part, de se reporter aux pages qui précèdent sur la constitution de la caséine et, d'autre part, de s'entendre sur le poids moléculaire que nous donnerons dans nos raisonnements à cette protéine. Auparavant, nous tenons à dire que, dans les lignes qui vont suivre, nous nous inspirerons beaucoup des travaux de J. LOEB, car les relations de la caséine avec les acides et les bases obéissent aux lois pondérales de la chimie minérale.

Les conceptions qui ont pu guider dans la chimie des protéines ont été généralement faussées par l'assimilation que l'on a voulu établir, en l'exagérant même, entre les colloïdes de nature protéinique et les colloïdes minéraux dont la composition chimique est si variée, par exemple, la silice, l'oxyde de fer, le sulfure d'arsenic, etc...

La chimie des colloïdes s'est complu à envisager toutes les conséquences possibles de l'hypothèse du micelle, agrégat de molécules que l'on estimait être plus ou moins impénétrable et agir surtout par sa surface. De là à faire jouer un rôle important aux phénomènes dits d'*adsorption*, il n'y avait pas loin. Malheureusement, cette vue d'allure tout empirique ne se prête à aucune interprétation traduisible en chiffres précis, parce que la surface des agrégats peut être variable, ce qui entraîne à son tour une variabilité dans l'adsorption par les particules colloïdales. Il en résultait donc, en s'appuyant sur une telle hypothèse, qu'il était *a priori* improbable que les micelles dont les dimensions manquaient de fixité pussent s'unir en proportions définies avec les acides et les bases, dans le domaine des protéines s'entend. Or, cela ne cadre pas avec les faits.

Les protéines se combinent avec les acides et les bases en proportions définies. — Longtemps, en effet, il avait semblé que les protéines pouvaient, devaient même, échapper aux lois qui régissent les combinaisons entre molécules plus simples, et le grand mérite de J. LOEB est d'avoir montré que certaines protéines se combinent aux acides et aux alcalis suivant les lois des proportions définies, si bien que la chimie des colloïdes ne pouvait différer dans l'étude de ses composés de celle des cristalloïdes. Rappelons ce que disaient déjà en 1865, MILLON et COMMAILLE (176, 177) : « La caséine s'unirait sans doute à la plupart des acides minéraux et organiques et si toutes ses combinaisons étaient réellement bien définies, il ressortirait de leur examen une connaissance plus exacte de la caséine, de sa formule, de

(176) E. MILLON et A. COMMAILLE. — De l'affinité de la caséine pour les acides et des composés qui en résultent. *C. R. Ac. Sc.*, 1865, 60, 118.

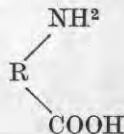
(177) E. MILLON et A. COMMAILLE. — Affinité de la caséine pour les bases. *C. R. Ac. Sc.*, 1865, 61, 221.

son équivalent, de son activité. » N'est-ce pas là un texte dont l'esprit dépasse l'époque de sa publication ?

La nécessité de fixer le pH des combinaisons salines de la caséine. — Dans l'union de la caséine, et disons d'une façon plus générale, des protéines avec les acides et les bases, il importe, si l'on veut percevoir l'exactitude des relations pondérales dont nous venons de parler, que l'on opère avec un pH déterminé. C'est pour ne pas l'avoir fait que l'on a si souvent pensé que les protéines ne se combinaient pas selon des lois précises avec les acides ou les bases et, de là à supposer que les électrolytes en question étaient adsorbés à la surface des micelles colloïdaux d'une façon plutôt irrégulière, il n'y avait qu'un pas. Or, les micelles protéiniques sont très perméables aux acides et aux alcalis ; c'est par leur masse qu'ils réagissent.

C'est un des mérites de J. LOEB d'avoir montré la nécessité de fixer le pH de la combinaison de la protéine, soit avec les acides, soit avec les bases, car pour un pH déterminé, les proportions qui se combinent de l'anion et du cation sont toujours les mêmes ; l'application de la théorie des équilibres de DONNAN aux protéines n'est d'ailleurs possible que dans le cadre de relations pondérales définies pour un pH déterminé entre les protéines et les électrolytes qui se trouvent de part et d'autre de la membrane. Elle exige que les protéines forment avec les acides ou les bases de véritables sels, que ces sels soient dissociables électrolytiquement en un ion de protéine colloïde et en un anion ou cation cristalloïde selon qu'il s'agit d'un sel de la protéine ou d'un protéinate. Dans ses travaux (57, 58), J. LOEB s'emploie, pour les protéines qu'il a particulièrement étudiées, notamment la gélatine et la caséine, à justifier cette conception que la chimie des colloïdes n'a pas de lois différentes de celles de la chimie minérale. Encore une fois, le phénomène d'adsorption qui peut jouer dans certains cas, mais pas ici, n'est que la résultante de réactions de surface, alors que l'union de la caséine avec les électrolytes, acides et bases, est une réaction de masses. Elle se fait grâce à des forces purement chimiques mettant en jeu l'affinité de valences primaires.

J. LOEB donne aux protéines le schéma suivant :



en prenant soin de faire remarquer que si son symbole ne renferme qu'un NH² et qu'un COOH, il n'est pas douteux qu'il y en ait plusieurs dans la molécule.

La caséine présente un caractère amphotère. Elle possède de multiples acidités et basicités, mais celles-là l'emportent sur celles-ci, d'où son caractère acide prononcé.

Nous adapterons la formule générale de J. LOEB à la caséine en tenant compte du plus grand nombre des COOH et du nombre moindre des NH², et nous introduirons dans le schéma les OH phosphoriques qui n'avaient pas été mentionnés par J. LOEB.

Si la caséine est considérée comme cation, donc par ses NH², elle donnera avec les acides, des sels. Si on la considère comme anion, c'est-à-dire par ses COOH, elle donnera avec les bases d'autres sels que l'on dénomme caséinates. Comme acide, elle doit être envisagée, d'une part, comme un acide gras ayant sous forme chimique active un grand nombre de groupes COOH et, d'autre part, comme un acide tri-phosphorique, — dans l'hypothèse d'un poids moléculaire = 12.000, — dont les OH primaires, quelquefois les secondaires, servent à saponifier des fonctions alcool des acides-alcools-aminés de la caséine. Les OH phosphoriques restant libres sont moins ionisables, c'est dire que leur caractère acide est peu prononcé.

Si la caséine est un électrolyte amphotère, elle est toutefois incapable de se combiner à *la fois* avec un acide et une base.

Le point isoélectrique de la caséine. — Au point isoélectrique, la caséine est libre de toute union avec les anions ou les cations. La conception du point isoélectrique a d'abord été d'origine physique, et ce n'est que plus tard que son sens chimique a été reconnu. Elle est due à W. HARDY (178, 179) et elle a joué un rôle considérable dans la chimie-physique des protéines.

W. HARDY avait remarqué que le blanc d'œuf dilué de plusieurs fois son poids d'eau distillée, puis chauffé à l'ébullition se meut dans un champ électrique, tantôt dans une direction, tantôt dans l'autre, selon que la réaction de la liqueur est acide ou alcaline. Quand la liqueur a une réaction alcaline, les particules de la protéine vont de la cathode vers l'anode ; c'est donc qu'elles sont chargées négativement et qu'elles jouent le rôle d'un anion. Au contraire, quand la liqueur est acide, le mouvement est inverse et les particules vont de l'anode vers la cathode ; elles sont chargées positivement et elles jouent le rôle d'un cation.

Le point de vue chimique du point isoélectrique. — C'est J. LOEB qui en 1904 abandonne la conception physique pour se placer à un point de vue uniquement chimique.

Si pour W. HARDY, comme pour MICHAELIS d'ailleurs, le point isoélectrique est caractérisé par une concentration en ions H pour laquelle les particules ne vont ni vers l'anode ni vers la cathode, on peut dire, au point de vue chimique, que *le point isoélectrique répond à une*

(178) W. B. HARDY. — On the coagulation of proteid by electricity. — *Journal of Physiol.*, 1899, **24**, 288.

(179) W. B. HARDY. — A Preliminary Investigation of the Conditions which determine the Stability of irreversible Hydrosols. *Proceed of the Roy. Soc. of London*, 1899-1900, **66**, 110.

concentration en ions H pour laquelle la protéine existe à l'état non ionisé, parce qu'elle ne peut former pratiquement ni protéinate métallique avec les bases, ni sel de protéine avec les acides.

Cette considération chimique est extrêmement féconde, puisqu'elle conduit à une méthode simple de préparation des protéines pures. Au point isoélectrique, la caséine est, en effet, théoriquement pure, parce qu'elle est dégagée de toute union, soit avec un acide, soit avec une base.

Nous avons suffisamment insisté, dans le chapitre de la préparation de la caséine, sur l'intérêt qu'il y a à bien observer le point isoélectrique.

Au-dessus du $pH = 4,6$, en allant vers des chiffres plus élevés, nous nous trouvons du *côté alcalin* du point isoélectrique ; en deçà, en allant vers des chiffres plus bas, nous sommes du *côté acide*.

On peut se demander si la protéine est la même des deux côtés du point isoélectrique, côté alcalin, côté acide ; autrement dit, le passage du côté acide au côté alcalin, ou vice versa, est-il ou non accompagné d'une modification dans la molécule, d'une sorte d'isomérisation faisant que l'anion du protéinate métallique n'est qu'un isomère du cation du composé de la protéine avec les acides. Sur ce point, à l'heure actuelle, on ne saurait être fixé.

Au point isoélectrique, si la floculation est maximum, plusieurs des propriétés de la protéine sont toutes au minimum. C'est le cas de la pression osmotique, de la viscosité, de la conductivité, du gonflement, et enfin du *nombre d'alcool* de FENN, c'est-à-dire la quantité d'alcool nécessaire pour précipiter la protéine.

Le « nombre » d'alcool. — Le nombre d'alcool est d'une application intéressante dans l'industrie laitière. On connaît la méthode qui décèle les laits acides et qui consiste à additionner à un volume de lait son égal volume d'alcool à 67°. Pour une acidité donnée, acidité acquise par suite d'une fermentation lactique en train de se développer, l'addition de l'alcool provoque une précipitation de la caséine.

A la place d'alcool, on pourrait sans doute se servir d'acétone. Ce qu'on pourrait, dans ce cas, appeler le *nombre d'acétone* serait certainement différent, mais il aurait la même signification que le *nombre d'alcool*.

La nécessité de connaître la concentration en ions H est donc d'une importance capitale, dit J. LOEB, pour l'intelligence des propriétés chimiques et physiques des protéines. *Cela tient au caractère d'électrolyte amphotère que possèdent les protéines susceptibles de donner avec les acides et les bases des sels ionisables dont la composition varie justement avec la concentration en ions H.*

Dans les calculs dont il va maintenant être question, nous nous arrêterons au poids moléculaire de 12.000 environ, tel qu'il a été défini antérieurement. Rappelons qu'une molécule d'une telle masse renferme

3 molécules d'acide phosphorique, qu'elle possède environ 83 molécules d'acides aminés, 31 *diacides* monoaminés, 10 monoacides *diaminés*.

Il y a lieu de savoir, conformément à la structure que nous avons donnée de la caséine, d'un côté, s'il y a suffisamment de NH^2 pour expliquer sa possibilité de s'unir avec les acides et, de l'autre, combien de COOH sont libres pour mesurer son union avec les bases.

Il existe des NH^2 libres, car la caséine donne avec les acides des composés définis, à la vérité peu stables.

D. D. VAN SLYKE et F. J. BICHARD (180) ont trouvé que le pourcentage d'azote présent dans les groupes aminés *libres* de la caséine est de 5,5 % environ. Pour A. KOSSEL et N. GAVRILOV (181), cet azote aminé libre correspondrait à la moitié de l'azote de la lysine.

LES SELS DE LA CASÉINE DANS LESQUELS CELLE-CI FONCTIONNE COMME CATHION, C'EST-A-DIRE COMME BASE

Ces sels sont d'une très grande instabilité, facilement dissociables, parce que la caséine renfermant peu de groupements NH^2 libres, en face d'un grand nombre de COOH libres, son caractère basique est ainsi très faible. Les combinaisons qui se forment sont solubles dans l'eau, et *d'autant plus facilement que la protéine est plus gonflée*.

Ce dernier point est important, et on doit en signaler tout de suite les conséquences.

Lorsqu'on précipite par les acides la caséine des caséinates, — et en passant nous pourrions en dire autant de la paracaséine, lorsqu'on traite les paracaséinates par les acides, — il faut surveiller l'apport acide avec le plus grand soin, potentiomètre en main, peut-on dire, parce que, avec le moindre excès d'acide, en présence d'une caséine ou d'une paracaséine fortement gonflée, offrant par suite une grande perméabilité aux réactifs, l'attaque de l'une et de l'autre de ces protéines est très facile. Il se forme des sels de caséine ou de paracaséine solubles, ce qui conduit à des pertes. LINDERSTROM-LANG et S. KODAMA (142) ne manquent pas de relever *le pouvoir réactionnel élevé de la caséine fraîchement précipitée* ; elle se dissout rapidement dans l'acide chlorhydrique, tandis que la caséine sèche ne réagit que lentement.

Cette solubilisation des protéines par les acides en excès, si facilitée, encore une fois, par les conditions dans lesquelles on opère, correspond à l'*acido-solubilisation* dont nous avons parlé plus haut.

Dans la préparation de la caséine, qu'il s'agisse d'acidification *spontanée* ou d'acidification *provoquée*, mais surtout dans ce dernier cas, il faut évidemment éviter l'emploi de trop d'acide ; et si, sans en employer

(180) D. D. VAN SLYKE et F. J. BICHARD. — The nature of the free amino groups in proteins. *Journ. of biol. Chem.*, 1913-1914, **16**, 539.

(181) A. KOSSEL et N. GAVRILOV. — Weitere Untersuchungen über die freien Amidogruppen der Proteinstoffe. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, 1912, **81**, 274.

trop, on travaille mal, irrégulièrement, que la concentration de l'acide soit forte en un point et faible en un autre, il y a fatalement là où elle est forte des acido-solubilisations. Avant d'arriver à la solubilisation franche, les grains de caséine se gonflent, deviennent gluants et se collent ; ils forment des masses difficiles à désagréger et que le lavage n'arrive à débarrasser ni de l'excès de l'acide employé, ni des sels du sérum qui s'y trouve englobé.

Avec la fermentation lactique spontanée, cela n'est guère à craindre, parce que l'acidité ne dépasse point, en général, le point isoélectrique ; elle reste plutôt en deçà. On ne s'en approche, avons-nous vu, que par le chauffage qui exagère l'ionisation de l'acide lactique formé.

Toutefois, si la production de l'acide lactique devenait considérable, ce qui serait certainement le cas si, au lieu des ferments lactiques ordinaires, on utilisait les ferments thermophiles très acidogènes, comme le *B. Bulgaricus*, on obtiendrait sans aucun doute des solubilisations à la faveur de l'excès d'acide. O. LAXA (182) a montré que la caséine se combine avec l'acide lactique et forme des lactates qui sont insolubles dans l'eau quand ils ne renferment pas plus de 1 % d'acide lactique. Il leur faut une teneur plus élevée en acide pour se solubiliser. W. VAN DAM (183) a également mis en évidence la combinaison de l'acide lactique et de la caséine et la formation entre eux d'un sel défini ; la caséine se combinerait avec une quantité constante d'acide lactique : 4,25 %.

Certains auteurs, lorsqu'ils traitent de la préparation de la caséine par acidification provoquée, faisant allusion aux excès possibles d'acide et en montrant tous les inconvénients, ne parlent rien moins que de *désintégration*, d'*hydrolyse*. Est-ce vraiment le mot applicable en l'espèce ? Nous ne le pensons pas en raison des circonstances qui jouent : température ordinaire et faible concentration acide, peu favorables à un clivage. La première désintégration par voie d'hydrolyse nécessite l'emploi de concentrations acides plus fortes qui demandent à agir pendant un temps prolongé.

La notion de composés de la caséine avec les acides ou avec les bases résulte déjà de l'expérience très simple suivante : lorsqu'on ajoute à de la caséine des quantités données d'acides ou de bases dilués N/10 et qu'on porte le volume à 100 cm³, on constate que la concentration en ions H des liqueurs obtenues est toujours différente de celle que l'on obtiendrait si l'on avait ajouté la même quantité d'acide ou de base à de l'eau pure en l'absence de toute caséine. Cela veut dire, comme le fait remarquer J. LOEB, qu'une partie de l'acide ou de la base s'est combinée à la protéine. Si c'est HCl que l'on emploie, il se forme un

(182) O. LAXA. — Ueber die Einwirkung der Milchsäure auf Kasein und Parakasein. *Milchwirths. Ztblatt*, 1905, 1, 12.

(183) W. VAN DAM. — Over de binding van melkzuur door caseïne. *Chem. Weekblad*, 1910, 7, 1013.

chlorure de caséine, tout comme il se forme un chlorhydrate d'ammonium quand, à la place de caséine, on prend de l'ammoniaque, avec cette différence toutefois que si le chlorure d'ammonium est faiblement hydrolysé, le chlorure de caséine l'est fortement ; cette hydrolyse conduit toujours à un équilibre, placé sous la dépendance de la température et des concentrations, entre l'acide libre, le chlorure de la caséine et la caséine isoélectrique non ionisée.

Les sels que la caséine forme avec les acides sont d'une faible solubilité. C'est ainsi qu'il n'est pas possible, en général, de préparer des solutions de caséine à 1 % avec les acides. Si l'acide auquel on a recours est PO^4H^3 , celui-ci fonctionne comme un acide monobasique dissocié de la façon suivante : $\text{H}^+ - (\text{PO}^4\text{H}^2)^-$ et voudrait-on alors faire des phosphates de caséine, qu'il faudrait à peu près trois fois plus de PO^4H^3 N/10 que de HCl du même titre.

Sans aucun doute, cette faible solubilité des sels de caséine tient à ce que celle-ci est déjà douée de propriétés fortement acides.

Nous ne nous arrêterons pas davantage sur les sels de caséine dans lesquels celle-ci fonctionne comme cathion, estimant qu'il est plus important d'étudier avec quelques détails les caséinates des bases alcalines et alcalino-terreuses.

LES SELS DE LA CASÉINE DANS LESQUELS CELLE-CI FONCTIONNE COMME ANION, C'EST-A-DIRE COMME ACIDE : LES CASÉINATES

Rien n'est plus confus au premier abord que l'histoire chimique des caséinates. Une terminologie qu'on peut regretter en est probablement la cause ; nous y ajouterons la méconnaissance du pH qu'on ne saurait toutefois adresser comme critique à beaucoup des auteurs qui ont écrit sur les caséinates, puisqu'ils ignoraient cette importante notion au moment de la publication de leurs travaux.

La classification la plus couramment adoptée à l'heure actuelle, et que l'on trouve dans les ouvrages les plus récents, résulte des travaux de L. L. VAN SLYKE et de ses collaborateurs : A. W. BOSWORTH, WINTER, HART, D. D. VAN SLYKE (173, 184, 109, 185, 186) qui ont distingué dans les sels calciques de la caséine, le *mono-calcique*, le *bi-calcique*, le *neutre* et le *basique*. Le sel neutre au tournesol, mais encore acide à la phénol-phtaléine, est appelé par ces auteurs, *caséinate neutre*.

(184) L. L. VAN SLYKE et O. B. WINTER. — Preparation, composition and properties of caseinates of magnesium. — *New York Agric. Exp. Stat.*, Février 1914, Techn. Bull. n° 33.

(185) L. L. VAN SLYKE et D. D. VAN SLYKE. — I. The action of dilute acids upon casein when no soluble compounds are formed. II. The hydrolysis of the sodium salts of casein. — *New York Agric. Exp. Stat.*, décembre 1906, Techn. Bull. n° 3.

(186) L. L. VAN SLYKE et E. B. HART. — Casein and paracasein in some of their relations to bases and acids. *Amer. Chem. Journ.*, 1905, 33, 461.

Le sel alcalin au tournesol, mais neutre à la phénol-phtaléine, est pour eux, le caséinate *basique*.

Dans une série de mémoires, ils indiquent comment préparer ces caséinates, tant d'ailleurs les composés magnésiens que les composés calciques, ainsi que les sels alcalins, de potassium, de sodium et d'ammonium et ils en donnent les propriétés.

La caséine chasse CO^2 des carbonates et bicarbonates. — La caséine est un *acide plus fort* que l'acide carbonique qu'il chasse de ses sels neutres ou acides, ce qui a permis à certains auteurs, par l'action de cette protéine sur les carbonates ou bicarbonates alcalins et alcalino-terreux, d'obtenir des caséinates de composition constante. Ce fait, signalé il y a déjà longtemps par F. SÖLDNER (14), a été utilisé par W. A. OSBORNE (187) pour préparer les caséinates d'ammonium, de sodium, de potassium, de lithium, de magnésium, de strontium et de calcium.

Les sels des bases alcalino-terreuses sont *précipitables de leurs solutions aqueuses par l'addition d'alcool sans aucune altération*.

Le caséinate calcique obtenu par l'action de la caséine sur le carbonate de calcium en solution est neutre à la phénol-phtaléine ; il correspond donc au *caséinate basique* de VAN SLYKE et BOSWORTH.

L'alcool précipite aussi bien le caséinate neutre, — neutre au tournesol, — de VAN SLYKE et BOSWORTH, que le caséinate neutre à la phénol-phtaléine, c'est-à-dire le caséinate *basique* des mêmes auteurs. Les précipités obtenus dans l'un et l'autre cas contiennent exactement la même quantité de calcium que les composés que l'on préparerait en neutralisant la caséine par la chaux en présence de l'un et de l'autre des susdits indicateurs colorés.

Serait-il possible pour les caséinates plus basiques ou plus acides que l'alcool les précipite également sans altération ? C'est sur quoi on ne peut répondre présentement. La question n'a d'ailleurs qu'un intérêt tout à fait réduit.

Le tri-caséinate de COURANT (188) correspond au caséinate *basique* de SÖLDNER, de VAN SLYKE et de HART (178), c'est-à-dire qu'il est neutre également à la phénol-phtaléine. Ce que COURANT appelle le *bi-caséinate* correspondrait à ce que VAN SLYKE et HART appellent le caséinate *neutre*, neutre au tournesol. Enfin le *mono-caséinate* de COURANT répondrait au caséinate bi-calcique de VAN SLYKE et BOSWORTH.

La terminologie de SÖLDNER, de L. L. VAN SLYKE, BOSWORTH et HART, en ce qui concerne les caséinates appelés pareux *neutre* et *basique*

(187) W. A. OSBORNE. — Caseinogen and its salts. *Journ. of Physiol.*, 1901, 27, 398.

(188) G. COURANT. — Ueber die Reaction der Kuh- und Frauenmilch und ihre Beziehungen zur Reaction des Caseins und der Phosphate. — *Thèse Doct. Méd.* Bonn, 1891. et *Arch. f. d. Ges. Physiol.*, 1891, 50, 109.

est acceptable, car à la neutralité vis-à-vis du tournesol et de la phtaléine correspondent des pH relativement fixes, respectivement 6,5 pour le tournesol, 8,2-8,3 pour la phénol-phtaléine. Mais la détermination en présence d'indicateurs colorés ne nous apporte pas les sécurités que nous offre le potentiomètre.

Quoi qu'il en soit, tous les auteurs ci-dessus nommés qui ont travaillé sur les caséinates sont d'accord pour reconnaître qu'à la neutralité, soit envers le tournesol, soit envers la phtaléine, *la caséine s'unit aux alcalis ou aux alcalino-terreux toujours en proportions définies*, ce qui indique des relations pondérales constantes entre la caséine et les bases en question. Nous nous trouvons donc ainsi d'accord avec les conceptions de J. LOEB.

Mais il semble à lire les travaux que nous avons rappelés tout à l'heure que les auteurs aient limité le nombre des sels de la caséine à quelques-uns seulement.

L. L. VAN SLYKE, pour l'obtention des sels qu'il appelle *mono-* et *bi-calciques*, part de caséinates plus riches en chaux qu'il déminéralise partiellement par un apport mesuré d'acide. Il est clair que si cet apport est différent de ceux auxquels l'auteur a eu recours, on n'en obtient pas moins d'autres sels qui peuvent être envisagés autant que les susdits caséinates *mono-* et *bi-calcique*. Ils auraient, comme ces derniers, une richesse constante en chaux; mais celle-ci au lieu de se traduire par les chiffres que nous allons trouver plus loin : 11— $11,5 \times 10^{-5}$ et 22— $22,5 \times 10^{-5}$ équivalent gramme de chaux pour 1 gramme de caséine, répondrait à des nombres différents, des multiples ou des sous-multiples.

Le caséinate *neutre*, neutre au tournesol, et le caséinate *basique*, neutre à la phénol-phtaléine, étant laissés de côté, on se rend compte que les autres composés salins de la caséine dont il est parlé par les auteurs déjà cités, s'ils sont certes définis, comme les autres, par une richesse constante en base, ont une composition qui semble avoir été décidée plutôt arbitrairement.

Pour VAN SLYKE et ses collaborateurs, il y aurait des sels *mono-*, *bi-*, *penta-*, et *octo-basiques*, les sels *penta-* étant neutres au tournesol, les sels *octo-*, neutres à la phtaléine du phénol. Mais en fait, nous croyons pouvoir dire qu'une telle classification ne s'impose pas. Pour nous, il est une multiplicité de sels de caséine, autant que de fonctions acides salifiables de cette protéine.

En 1910, WOOD et HARDY ont mis en relief la basicité des protéines, ce qui les conduisait à admettre que celles-ci pouvaient donner un nombre considérable de sels, chacun d'eux ne pouvant être caractérisé que dans des conditions bien précises de température et de concentration, et nous dirons maintenant avec J. LOEB, de pH .

LE POIDS ÉQUIVALENT DE LA CASÉINE.— Avant de partir de cette

donnée pour faire la critique de la terminologie que nous avons rappelée plus haut, il est utile de définir ce que l'on entend par *le poids équivalent* de la caséine vis-à-vis des bases. Nombreux sont les auteurs qui s'en sont occupés : SÖLDNER (14), G. COURANT (188), H. TIMPE (189), LAQUEUR et SACKUR (190), MATTHAIPOULOS (191), HART (192), PFYL et TURNAU (193), PEROFF (194), BLEYER et SEIDL (195), ROBERTSON (196), LOEB (197), COHN (126, 199).

V. PERTZOFF (198), dans un tableau que nous reproduisons sur la titration de la caséine avec les bases, résume leurs recherches, *en prenant soin de dire par rapport à quel réactif ou à quel pH la titration a été calculée.*

Il est évident que lorsqu'on fait varier le pH, en s'avancant dans la zone alcaline, le poids équivalent devient plus petit. C'est ainsi que par rapport à la phénol-phtaléine, le poids de caséine, en grammes, qui s'unit à un équivalent de base est en moyenne 1125. S'agit-il au contraire, de déterminer ce même poids par rapport à un pH = 7 il est 2.000.

ROBERTSON (188), trouve qu'à la saturation, un gramme de caséine s'unit à 180×10^{-5} équivalent de base, mais on doit d'abord se demander ce qu'on entend par *saturation*, notion importante qui doit être définie par rapport à un pH déterminé.

La quantité minimum de base pour dissoudre la caséine près de son point isoélectrique. — Ceci nous amène à examiner les différentes étapes par lesquelles doit passer la caséine, d'acide insoluble à l'état de caséinate saturé, comme l'entend ROBERTSON. Il était d'abord

(189) H. TIMPE. — Ueber die Beziehungen der Phosphate und des Caseins zur Milchsaure-Gärung. *Arch. Hyg.*, 1893, **13**, 1.

(190) E. LAQUEUR et O. SACKUR. — Ueber die Saureigenschaften und das Molekulargewicht des Kaseins und seine Spaltung beim Trocknen. *Beitr. chem. Physiol. u. Path.*, 1903, **3**, 193.

(191) G. T. MATTHAIPOULOS. — Feststellung des Aequivalent-gewichts des Kaseins und eine neue Method zur Bestimmung des selben. *Zeitschr. für anal. Chem.*, 1908, **47**, 492.

(192) E. B. HART. — A volumetric method for the estimation of casein in cow's milk. *Journ. of biol. Chem.*, 1909, **6**, 445.

(193) B. PFYL et R. TURNAU. — Massanalytische Bestimmung des Kaseins in der Milch mittels des Tetraserums. *Arb. k. Ges.*, 1914, **47**, 347.

(194) S. PEROFF. — *Ann. Inst. Laiterie Volgda.* — 1921, **2**, n° 2, 95.

(195) B. BLEYER et R. SEIDL. — Beitrage zur Kenntnis des Kuhmilch-casein. *Biochem. Zeitschr.*, 1922, **128**, 48.

(196) T. B. ROBERTSON. — Studies in the electro-chemistry of the proteins. I. The dissociation of potassium caseinate in solutions of varying alkalinity. *Journ. Phys. Chem.*, 1910, **14**, 528.

(197) J. LOEB. — Chemical and physical behavior of casein solutions. *Journ. of Gen. Physiol.*, 1921, **3**, 547.

(198) V. PERTZOFF. — The effect of temperature upon some of the properties of casein. — *Journ. of gen. Physiol.*, 1927, **10**, 961.

(199) E. J. COHN. — The physical chemistry of the Proteins. — *Physiol. Rev.*, 1925, **5**, 349.

utile de calculer la quantité minimum de base alcaline et alcalino-terreuse nécessaire pour tenir en solution la caséine aussi près que possible de son point isoélectrique.

TABLEAU XXV
TITRATION DE LA CASÉINE AVEC LES BASES

		Equivalent de base X 10 ⁻⁴ s'unissant à 1 gr. de caséine	Quantité de caséine en grammes s'unissant à 1 équivalent de base
Söldner	Par rapport à la phénol-phtaléine.	8,16	1230
Courant	»	9,50	1050
Timpe	»	9,35	1070
Laqueur et Sackur . . .	»	8,80	1135
Matthaiopoulos	»	8,85	1130
Hart	»	9,25	1080
Pfyl et Turnau	»	8,75	1145
Peroff	»	8,20	1220
Bleyer et Seidl	»	8,77	1144
		Moyenne	1125
Robertson	pH = 8,5	8,0	1250
Loeb	pH = 8,5	6,6	1520
Cohn	pH = 8,5	6,3	1590
Robertson	pH = 7	5,1	1960
Loeb	pH = 7	4,3	2340
Cohn	pH = 7	5,0	2000

ROBERTSON (200), VAN SLYKE et BOSWORTH (53), COHN et BERGGREN (143), COHN et HENDRY (120), V. PERTZOFF (198) successivement s'y sont employés. L. L. VAN SLYKE et BOSWORTH ont montré que pour qu'un gramme de caséine forme un composé soluble avec les bases monovalentes, il fallait 11 à $11,15 \times 10^{-5}$ équivalent de base, et qu'il en fallait juste le double : 22 à $22,3 \times 10^{-5}$, avec les bases alcalino-terreuses.

En dessous de ce chiffre, les caséinates alcalino-terreux, dont notamment le caséinate calcique qui nous intéresse particulièrement ne sont plus solubles dans l'eau.

Entre cette valeur minimum : $11-11,15 \times 10^{-5}$ qui correspond au premier caséinate alcalin soluble obtenu, le plus près par conséquent du point isoélectrique de la protéine, et la valeur maximum : 180×10^{-5} donnée par ROBERTSON comme correspondant à la saturation du caséinate par les bases, s'étagent toute une suite de valeurs intermédiaires répondant à des caséinates qui doivent posséder un pH déterminé.

(200) T. B. ROBERTSON. — *The physical Chemistry of the Proteins*. Longmans, Green & Co. Ed., New-York, 1918. Dans cet ouvrage, on trouvera une abondante bibliographie.

Nous y trouverons les caséinates de VAN SLYKE et BOSWORTH : mono-, bi-, penta- et octo-basiques, ceux de COURANT : mono-, bi- et tri-calciques.

Il nous reste à voir comment nous pouvons comprendre maintenant la formation de ces divers sels en nous appuyant sur la constitution de la molécule.

En faisant le bilan des carboxyles de la caséine, nous voyons avec COHN que le nombre de ceux qui sont libres, — les autres étant engagés dans des liaisons peptidiques ou dicétopipéraziniques, ou étant encore transformés en groupements amidés par l'ammoniaque, — est environ de 19. En tout cas, il ne doit guère être plus grand que ce nombre. A l'acidité carboxylique doit se joindre l'acidité phosphorique. Pour COHN, il y aurait 9 oxhydriles phosphoriques actifs, puisqu'il ya 3 acides orthophosphoriques dans la caséine. Mais nous avons vu que plusieurs de ces oxhydriles, les primaires, sont engagés dans des éthers, quelquefois même des oxhydriles secondaires, et il ne reste que les oxhydriles tertiaires très peu ionisables, comme on le sait, d'un caractère acide pour ainsi dire négligeable. On ne saurait donc admettre avec COHN que le nombre des fonctions acides de la caséine relevant tant des carboxyles que de l'acide phosphorique soit de $28 = 19 + 9$.

L'analyse du caractère acide de la caséine à laquelle nous venons de procéder nous montre que c'est vraiment par l'accumulation de ses carboxyles libres que la caséine est nettement acide. Les oxhydriles phosphoriques interviennent après.

Faut-il encore admettre avec T. OSBORNE que le groupement COHN que l'on peut écrire, tantôt sous la forme cétonique —C—NH ,

$$\begin{array}{c} \parallel \\ \text{O} \end{array}$$

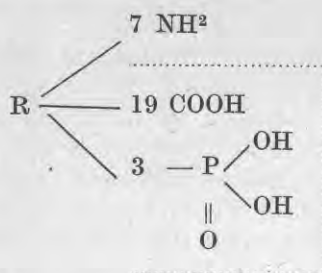
tantôt sous la forme énolique —C=N , puisse intervenir dans la neu-

$$\begin{array}{c} \text{OH} \\ | \end{array}$$

tralisation des bases par la protéine ? C'est moins vraisemblable.

On voit donc que l'acidité de la caséine relève de plusieurs facteurs, d'où la difficulté lorsqu'on neutralise la caséine, en lui ajoutant progressivement des équivalents de bases, de déterminer l'endroit précis où ceux-ci se fixent. On peut avancer que pour un pH donné, — du moins est-il logique de le faire, — la quantité de base se place en des points toujours les mêmes ; en d'autres termes, l'ordre de succession des neutralisations des diverses fonctions acides de la caséine ne saurait être quelconque.

Nous allons partir de la caséine, en laissant de côté les groupements COHN, salifiables pour Th. OSBORNE, et dont *a priori* on ne doit concevoir la neutralisation qu'en présence d'un fort excès de base. Nous aurons la formule suivante :



Si nous saturons complètement les 19 COOH par de la chaux, nous voyons que pour une molécule pesant 12.000 environ, il faut 532 de chaux, quantité correspondant à 19 équivalents de chaux, soit 19×28 .

Si nous saturons également les 6 OH phosphoriques qui restent, les 3 secondaires et les 3 tertiaires, ils exigent une quantité équivalente de chaux : $6 \times 28 = 168$. Au total, les 12.000 de caséine réclameraient pour leur saturation 700 de chaux.

Voyons en présence de ces déductions théoriques ce que donne l'expérience.

1 gramme de caséine exige, en chiffres ronds, 9 cm³ N/10 de soude, pour être neutralisé vis-à-vis de la phénol-phtaléine, c'est-à-dire pour donner un caséinate dont le pH = 8,2-8,3. Si nous substituons la chaux à la soude, le même calcul que ci-dessus nous montrerait que pour saturer 12.000 de caséine, il nous faudrait 322 gr. 5 de chaux pour arriver à la neutralisation à la phénol-phtaléine, soit 2 gr. 52 %. VAN SLYKE, BOSWORTH et HART trouvent que le caséinate basique de calcium, neutre à la phénol-phtaléine, contient 2,56 % de chaux. Les chiffres sont donc identiques.

Ce qu'on peut déduire de cette discordance si grande entre ce que la théorie nous engage à calculer, soit 700 de chaux, et ce que l'expérience nous donne, 322 gr. 5, c'est d'abord que la neutralisation vis-à-vis de la phénol-phtaléine ne correspond nullement à la saturation de tous les carboxyles et des OH phosphoriques restés libres ou que, sans doute, nous avons admis une trop grande quantité de carboxyles libres. Nous pencherions plutôt pour la première hypothèse.

Neutraliser la caséine vis-à-vis de la phénol-phtaléine, c'est-à-dire obtenir un pH = 8,2-8,3, ce n'est donc que saturer une partie des groupements acides, même pas la moitié d'après les chiffres ci-dessus. L'autre moitié ne sera saturée que par un excès de base en conduisant à un pH très élevé, approchant 10, c'est-à-dire, à un point où selon H. F. ZOLLER (201) commence l'hydrolyse de la caséine.

H. F. ZOLLER dans ses études sur la viscosité des caséinates montre

(201) H. F. ZOLLER. — Casein viscosity studies. — *The Journ. of Gener. Physiol.*, 1921, 3, 635.

que la viscosité maximum est atteinte pour les sels de sodium et d'ammonium avec un $pH = 9,10-9,25$ correspondant à 98×10^{-5} équivalents de base pour un gramme de caséine.

En nous reportant à la formule que nous avons donnée de la caséine, formule qui n'exprime que le nombre et la qualité de ses multiples acidités, nous voyons que, théoriquement, il est possible d'obtenir, non pas un nombre quelconque de sels, un nombre indéfini a-t-on été jusqu'à dire, mais du moins un nombre correspondant au nombre même des fonctions acides mises en évidence. Théoriquement, 19 sels sont possibles par la neutralisation progressive des 19 COOH. Comme il y a en outre 3 OH phosphoriques facilement salifiables, on aura 3 phosphates de ce côté; nous ne tenons pas compte ici des trois derniers OH, les OH tertiaires des trois molécules phosphoriques de la caséine, qui ne seront certainement salifiés qu'en présence d'un grand excès de base, à la veille de l'hydrolyse alcaline de la protéine. Peut-être aussi devons-nous penser aux 4 OH phénoliques de la tyrosine.

ROBERTSON (200) dans son livre estime que *l'acidité de la caséine est due uniquement aux groupes COOH*. Il y aurait 16 COOH dans la molécule, ce qui correspondrait à 25 % de l'oxygène total ou, plus exactement, à l'oxygène qui est contenu dans les groupes COOH de l'acide glutamique calculés comme libres. On aurait donc toute une série de sels qui s'échelonnent depuis le premier jusqu'au seizième. Mais, ainsi que nous l'avons fait remarquer plus haut, il ne nous est pas possible présentement d'être fixé sur leur constitution exacte. On conçoit cependant que dans la salification progressive de la caséine par les bases, les premiers caséinates solubles que l'on obtient soient encore très acides; en d'autres termes, — et le rapprochement nous semble permis, — s'il y a un sulfate neutre et un sulfate acide, des phosphates mono-, bi-, et tri-métalliques, un oxalate neutre et un oxalate acide, etc..., il y aura des caséinates mono-, bi-, tri-, penta-, hexa-,... déca-,... hexadéca-métalliques.

Les nombreux caséinates possibles. — Donc, entre la caséine libre, insoluble dans l'eau, et la caséine *complètement saturée de base*, à la veille de son hydrolyse, il est évidemment de nombreux intermédiaires, du fait des multiples acidités de cette protéine, et cela nous permet de dire que la terminologie de certains auteurs est non seulement critiquable, comme nous l'avons déjà vu, mais incomplète.

A chacun de ces si nombreux sels correspond un pH déterminé. C'est donc par rapport à cette donnée physico-chimique que doivent être définis les sels de la caséine; cela n'empêche nullement, encore une fois, que des relations pondérales très définies existent entre les quantités de caséine et de base qui s'y trouvent unies.

Nous allons partir de la caséine insoluble dans l'eau, puis, après l'avoir solubilisée, nous lui ajouterons des quantités de base de plus

en plus fortes. Chemin faisant, nous marquerons certains points d'arrêt en relevant ce qu'ils ont d'intéressant pour l'étude du lait.

Si la caséine est insoluble dans l'eau, une suspension de cette protéine soigneusement broyée dans l'eau distillée rougit le papier de tournesol, mais seulement quand celui-ci est touché par des particules en suspension, car le liquide ne contenant aucune trace de caséine est neutre vis-à-vis du même indicateur.

Nous pouvons conclure de cette observation que si la caséine est insoluble dans l'eau, ses ions y sont, au contraire, solubles. Nous en venons ainsi à la conception de LANGMUIR qui a montré que lorsqu'on met de l'acide oléique au contact de l'eau, cet acide insoluble s'étend à la surface pour que, de cette manière, son groupement COOH puisse se dissoudre dans l'eau sous-jacente sans que la chaîne hydrocarburée de cet acide gras se rompe.

A partir de quel moment devons-nous avoir un commencement de solubilisation de la caséine ? Les recherches de VAN SLYKE et de ses collaborateurs nous ont montré qu'avec les **bases alcalines** : *ammoniaque, soude, potasse, lithine*, on commence à avoir une solubilisation par combinaison de 1 gramme de caséine avec $11,0 - 11,15 \times 10^{-5}$ équivalent-grammes de base. C'est à cet taux de base que correspond ce que ces auteurs ont appelé caséinate acide *mono-métallique*. Si 1 gramme de caséine se combine à $22,5 \times 10^{-5}$ équivalent-grammes de base, on a les caséinates *bi-métalliques*. Mais caséinates mono- et bi-alcalins sont encore acides et nous n'avons pas encore atteint avec eux, il s'en faut, la saturation par les bases. ROBERTSON, dans son hypothèse où 16 COOH sont libres dans la molécule (il laisse toujours de côté les OH phosphoriques) admet que lorsqu'on arrive à la limite, c'est-à-dire au premier excès de base, la quantité de celle-ci qui sature un gramme de caséine répond à : 180×10^{-5} équivalent de base. Le rapport de 180 à 11,5 est presque exactement 16. Pour ROBERTSON, la caséine se comporterait donc comme un acide 16 fois basique. On peut avec les chiffres que nous avons donnés plus haut admettre même que cette basicité est d'un ordre numérique un peu plus élevé.

L'étude des caséinates des métaux alcalins est d'un moindre intérêt que celle des caséinates des métaux alcalino-terreux, notamment du calcium, et c'est sur elle que nous allons maintenant insister.

Les caséinates calciques. — VAN SLYKE et ses collaborateurs ont établi une classification des sels calciques de la caséine qui s'arrête pour eux au caséinate dit *basique* (neutre à la phtaléine du phénol). Dans ce composé, un gramme de caséine se trouve uni à 90×10^{-5} équivalent-grammes de chaux. Ils laissent de côté une série de sels calciques plus riches en chaux, celle dans laquelle un gramme de caséine

peut être salifié par une quantité équivalente-grammes de chaux allant de 90×10^{-5} à 180×10^{-5} , ce qui compléterait la série des 16 sels de ROBERTSON.

VAN SLYKE, BOSWORTH et HART ont préparé quatre des sels alcalino-terreux de la première série comprenant respectivement 1, 2, 5 et 8 équivalents de base. Ce sont ces sels qu'ils ont qualifiés de *mono-*, *bi-*, *neutre* (neutre au tournesol) et *basique* (neutre à la phénol-phtaléine). Aux expressions *neutre* et *basique*, on devrait substituer, pour rendre la comparaison plus nette avec les sels *mono-* et *bi-* calciques, les expressions *penta-* et *octo-* calciques. Les autres sels calciques renfermant 3, 4, 6 et 7 équivalents de base n'ont pas été préparés.

Par ce qui vient d'être dit, on se rend compte, encore une fois, de tout ce qu'a d'artificiel cette classification, car on ne voit pas pour quelle raison les sels contenant 3, 4, 6 et 7 équivalents de terres alcalines n'existeraient pas aussi bien que ceux qui ont été plus spécialement étudiés. On juge ici la nécessité de l'intervention du *pH*. C'est par rapport à cette dernière donnée que les caséinates métalliques doivent être définis. Mais faut-il admettre qu'il y ait autant de caséinates que de *pH*, c'est-à-dire presque une infinité, depuis le point isoélectrique de la caséine : *pH* = 4,6 jusqu'au *pH* = 10,0 environ où commence, en raison du grand excès de base, la décomposition de la caséine par voie hydrolytique? Evidemment non. La définition des sels de la caséine par rapport à leur *pH* présente, derrière son apparente précision, quelque chose d'incomplet; nous devons le reconnaître. Cela tient justement à notre méconnaissance du nombre exact des groupements acides de la caséine et de leur degré d'ionisation. Alors que nous sommes fixés sur la constitution des sulfates, des phosphates, des oxalates, que nous savons reconnaître les sulfates acide et neutre, les phosphates *mono-*, *bi-*, et *tri-* métallique, les oxalates acide et neutre, encore une fois, nous ne le sommes point, ou si mal ! sur celle des caséinates.

La neutralisation des fonctions acides de la caséine doit se faire par paliers successifs et non d'une façon continue. Pour neutraliser 98 de SO^4H^2 , il faut 40 de NaOH si nous voulons obtenir le sulfate acide, 80 si nous visons le sulfate neutre; mais si nous mettons en présence de 98 de SO^4H^2 , 60 de NaOH, nous faisons bien évidemment un mélange de sulfate acide et de sulfate neutre; nous ne faisons pas un sulfate intermédiaire lequel n'existe pas. Si nous admettons que la caséine est 16 fois acide — elle le serait 20 fois et plus, le raisonnement resterait le même, — la neutralisation de la caséine par la soude, par exemple, exigera des nombres entiers de molécules de soude pour faire successivement les sels *mono-*, *bi-*, *tri-*,... *pentadéca-*, *hexadéca-* sodiques. Dans l'hypothèse où notre apport sodique est continu, nous arrivons fatalement à faire des mélanges de caséinates, voisins d'ailleurs par leur richesse en soude. C'est ainsi que lorsque nous avons dépassé la quantité

de soude suffisante pour neutraliser par exemple cinq fonctions acides et que nous abordons la neutralisation de la sixième fonction, nous aurons pendant un certain temps des mélanges de caséinates pentabasique et hexa-basique. On s'explique ainsi la continuité du pH qui semble expliquer la continuité dans la neutralisation des fonctions acides de la caséine. Mais en fait, si notre raisonnement se tient, nous restons néanmoins dans l'ignorance du moment où ayant saturé un nombre entier de fonctions acides, nous abordons la saturation d'une autre fonction. La courbe devrait marquer des points d'inflexion en nombre égal à celui des fonctions acides à salifier.

La terminologie des caséinates doit donc être, à notre avis, tout à fait renouvelée. Il nous faut abandonner ces expressions *mono-*, *bi-*, *neutre* et *basique* de SÖLDNER, VAN SLYKE, BOSWORTH et HART, celles aussi de COURANT : *mono-*, *bi-* et *tri-caséinate*, et en venir à la forme moderne, au fond plus précise, qui se base uniquement sur la valeur du pH . Tout caséinate dont le pH est < 7 sera dit *caséinate acide*; celui dont le pH sera > 7 , caséinate *basique*, et enfin l'expression de caséinate *neutre* sera réservée à celui dont le $pH = 7$.

Il est peut-être intéressant de revenir sur la polybasicité de la caséine dont nous venons de montrer l'interprétation si délicate, si difficile, en rappelant ce que nous avons dit plus haut de la quantité de chaux nécessaire pour neutraliser vis-à-vis de la phénol-phtaléine la molécule de la caséine dont nous avons fixé le poids minimum à 12.000 environ. Il faut 322 gr. 50 de chaux pour neutraliser 12.000 de caséine vis-à-vis de la phénol-phtaléine. Or, 322 gr. 50 correspondent à près de 12 équivalents de CaO .

C'est dire que la caséine est pour le pH correspondant au virage à la phtaléine du phénol, 12 fois basique.

A la neutralité vraie correspondant à un $pH = 7$, la quantité de chaux nécessaire pour neutraliser 12.000 de caséine est égale à 250, soit 9 équivalents de chaux. *A ce point, il y a dans le caséinate 50 fois plus de caséine que de base*, en chiffres ronds. Retenons ce chiffre 50, car nous aurons à en faire état plus loin, dans la mécanique chimique de l'empresurage.

PALMER et RICHARDSON (202) ont déterminé potentiométriquement le pH d'une solution renfermant, pour 100 cm^3 , 1 gramme de caséine et des quantités variables et croissantes de soude, d'une part, de chaux, d'autre part. Les deux courbes ne sont pas tout à fait superposables en raison des différences de dissociation des caséinates sodiques et calciques. Les caséinates sodiques sont plus dissociés que les caséinates calciques, si bien qu'avec des quantités équivalentes de base, le pH du

(202) L. S. PALMER et G. A. RICHARDSON. — *The Colloid Chemistry of Rennet Coagulation*. in Colloid Symposium Monograph, Chem. Catalog. Co, New-York, et Journal Series, Paper 548. *Minnesota Agric. Exp. Stat.*

caséinate sodique va plus rapidement vers l'alcalinité que celui du caséinate calcique. Dans le tableau XXVI, un peu plus loin, nous avons réuni, d'une part, des données fournies par PALMER et RICHARDSON, et d'autre part, certains calculs que nous avons faits en prenant comme base la quantité de chaux existant en solution avec 30 grammes de caséine au litre, taux moyen acceptable du lait de vache.

Nous avons négligé la part qui revient à la dissociation électrolytique dans les solutions de caséinate. Il est évident qu'en présence de masses semblables de caséine et de chaux, le pH d'une solution à 30 grammes de caséinate au litre n'est pas tout à fait le même que celui de la solution qui ne contient que 10 grammes, mais la différence n'est pas considérable et les valeurs numériques données dans le tableau ci-dessus peuvent être acceptées. Elles répondent d'ailleurs à nos propres recherches.

Nous disions plus haut que dans l'apport continu d'une base, nous avons comme une suite ininterrompue de pH , mais, ainsi que le montrent PALMER et RICHARDSON, les courbes de neutralisation de la caséine ne sont pas régulières. Jusqu'au $pH = 9$ environ, elles présentent comme des paliers, surtout celle du caséinate de soude ; avec la chaux, cela est moins net. Faut-il incriminer des neutralisations successives du second OH et du troisième OH de l'acide orthophosphorique ainsi que l'admettent W. F. HOFFMAN et R. A. GORTNER (72) ? Cela est possible, mais il ne faut point oublier qu'il y a un nombre beaucoup plus considérable de COOH libres dans la caséine que d'OH phosphoriques, et c'est à lui qu'est dû, pour la plus grande part, le pouvoir tampon de la caséine, quoique ce dernier soit très inférieur au pouvoir tampon de certains sels organiques, plus souples à réagir.

Si nous comparons maintenant les données du tableau de PALMER et RICHARDSON que confirment à très peu de choses près les nôtres, et celles de VAN SLYKE et ses collaborateurs HART et BOSWORTH, de COURANT, nous voyons qu'il n'y a pas toujours une bonne concordance. Nous nous en tiendrons pour l'instant aux caséinates dits *neutre* et *basique* de ces auteurs.

Le caséinate *basique*, neutre à la phénol-phtaléine contiendrait pour un gramme de caséine : $80-90 \times 10^{-5}$ équivalents de chaux, soit 2,25-2,50 de chaux %, le sel étant obtenu par précipitation alcoolique. COURANT donne 2,91, TIMPE 2,62, TAGUE, d'après VAN SLYKE et BOSWORTH, 2,56.

On ne saurait dire que ces chiffres soient tout à fait voisins, mais enfin celui de COURANT mis à part, les autres se touchent d'assez près. Le virage à la phénol-phtaléine commençant à se faire avec un pH aux environs de 8,2-8,3, nous voyons, dans les tableaux de PALMER, que pour un pH de 8,10, le caséinate correspondant contient 2,52 % de chaux. Il y a donc encore un accord presque complet entre ces chiffres et les précédents.

Si la neutralisation se fait en présence de tournesol, nous avons les caséinates *neutres* de SÖLDNER et autres auteurs. Le sel obtenu par précipitation alcoolique renfermerait 1,50 % de chaux. Il correspond à un $pH = 6,4-6,5$. Avec un $pH = 7$, nous sommes d'accord avec PALMER et RICHARDSON, à quelques centièmes près, pour un caséinate renfermant 1,91-2 gr. de chaux.

Dans le tableau ci-dessous, nous donnons les valeurs en chaux des divers caséinates de VAN SLYKE et ses collaborateurs : mono-calciqne, bi-calciqne, neutre, etc... Les sels de magnésium donnent d'ailleurs une série de sels correspondant tout à fait à celle des caséinates de calcium.

	Gr. de Ca pour 100 gr. de caséine	Equivalent
Caséinate mono-calciqne	0,22 (0,31 CaO)	$11,25 \times 10^{-5}$
» bi-calciqne	0,44 (0,62 CaO)	$22,50 \times 10^{-5}$
» neutre de Ca	1,07 (1,50 CaO)	$56,25 \times 10^{-5}$
» basique de Ca	1,78 (2,56 CaO)	$90,00 \times 10^{-5}$

Comme il a été dit, nous rassemblons dans un autre tableau les données que nous avons extraites des recherches de PALMER et des nôtres propres, en les ramenant à 30 grammes de caséine par litre.

TABLEAU XXVI
QUANTITÉS DE CHAUX UNIES A 30 GRAMMES DE CASÉINE
POUR UN pH DONNÉ

Chaux en milligr.	% de CaO	pH	
250	0,83	5,80	
400	1,33	5,95	
420	1,40	6,25	
450	1,50	6,45	Neutre au tournesol
500	1,66	6,55	
588	1,96	7,00	
600	2,00	7,10	
675	2,25	7,45	
750	2,50	8,15	Neutre à la phénol-phtaléine
840	2,80	8,80	
900	3,00	9,05	
1000	3,33	9,35	
1100	3,66	9,50	
1250	4,16	9,75	

PRÉPARATION DES CASÉINATES DE CALCIUM. — Après les considérations théoriques dans lesquelles nous venons d'entrer, il y a lieu maintenant de pénétrer sur le terrain des expériences relatives aux caséinates, à leur préparation et à leur façon de se comporter vis-à-vis de certains sels.

Il importe de rappeler que la caséine possède une grande hygroscopicité. Aussi doit-on tenir compte de son eau résiduelle dans toutes les pesées effectuées, à moins qu'on ne détermine le taux de la caséine par un dosage d'azote.

La caséine qui doit servir aux expériences sera conservée dans des flacons bouchés à l'émeri. On la desséchera sous le vide sulfurique, voire même sous un vide prolongé en présence d'anhydride phosphorique, et on la portera à 100° pendant quelques heures. On peut même, comme HAMMARSTEN le recommande, lorsque la caséine est très pure, aller jusqu'à 110°. Comme la caséine chauffée trop haut se dissout moins bien, nous préférons doser l'azote sur un échantillon moyen de la masse qui servira à toute une série d'expériences ; par différence, nous aurons le taux de l'humidité qui doit concorder avec celui qui a été déterminé directement. D'une façon ou de l'autre, on arrivera à fixer avec exactitude le poids de la caséine qui va être utilisée, ce qui est de toute nécessité pour certaines déterminations particulièrement délicates à faire, notamment lorsqu'on s'emploiera à calculer le poids du morceau détaché de la caséine sous l'action de la présure.

Nous sommes toujours partis, sauf de rares exceptions, d'une solution renfermant 3 grammes de caséine %, soit 30 grammes de caséine au litre.

La préparation des caséinates de calcium demande beaucoup de précautions.

Pour une quantité de caséine donnée, nous serons amené à faire des caséinates de calcium de richesses en chaux très différentes. Le plus généralement, on se contentera d'eau de chaux pour neutraliser la caséine au degré voulu. Si les caséinates sont très riches en chaux et, si, par exception, le taux de la caséine dépasse 3 %, force sera de s'adresser à de la chaux préparée extemporanément, par calcination au rouge vif dans un creuset de platine, de carbonate de chaux très pur sans la moindre trace de chlorure.

Dans nos premières recherches, c'est à cette chaux que nous nous adressions. Avec elle, nous faisons un lait de chaux très dilué que nous versions goutte à goutte sur la caséine en triturant dans un mortier. Mais tant qu'on prépare des solutions de caséinates qui ne demandent pas plus de 1 gr. 20 de chaux par litre, il est préférable d'utiliser l'eau de chaux dont le titre oscille autour de 1 gr. 20 à 1 gr. 25, titre qu'il faudra, bien entendu, pour chaque eau de chaux nouvellement préparée, préciser exactement par titrage vis-à-vis de la phtaléine du phénol avec de l'acide sulfurique.

Quand on utilise l'eau de chaux, voici comment on opère :

La caséine étant pesée, compte toujours tenu de l'humidité qu'elle renferme et qui, répétons-le, a été déterminée sur un échantillon moyen, on la broie dans un mortier en présence déjà d'un peu d'eau distillée, puis, quand la masse

pâteuse est homogène, on apporte goutte à goutte et fort lentement la quantité d'eau de chaux nécessaire, en agitant énergiquement ; on ne cesse pas de broyer soigneusement pour écraser les moindres petits grains de caséine qui auraient pu se tasser l'un contre l'autre. Tout au début, le caséinate est blanchâtre, puis il acquiert l'aspect de la colle ; son opalescence s'accroît à mesure que la quantité d'eau de chaux mise en œuvre augmente.

Si l'on veut préparer des caséinates qui soient très riches en chaux et dont le taux en caséine dépasse 30 grammes par litre, de toute nécessité, il nous faut recourir à un lait de chaux puisqu'on doit employer des quantités de chaux dépassant 1 gr. 20 par litre. Le lait fluide utilisé sera mélangé à de l'eau de chaux, celle-ci devant être utilisée dans tous les cas ; en d'autres termes, on ne préparera de chaux par calcination du carbonate que la quantité juste nécessaire, celle que n'apporte pas l'eau de chaux.

La préparation des caséinates alcalins de Na, K, NH_4 , se fait également par union directe de la caséine et de la base, mais plus encore que lorsqu'il s'agit de caséinate de calcium, il ne faut pas oublier que l'alcali libre altère la caséine et, par conséquent, il ne faut apporter la base à la caséine que sous une forme diluée, et en agitant vigoureusement.

Certains caséinates peuvent être préparés, comme l'a montré W. A. OSBORNE (187), par action de la caséine sur un carbonate, qu'il s'agisse d'ailleurs de carbonate alcalin ou de carbonate alcalino-terreux. Toutefois, quand le carbonate est insoluble, et c'est le cas des carbonates alcalino-terreux, mieux vaut traiter la caséine en excès par la base diluée.

La caséine donne également des sels avec des composés organiques de basicité prononcée. C'est ainsi que l'on peut préparer des caséinates d'alcaloïdes.

Les sels de caséine peuvent être divisés en deux groupes. Le premier contient les sels des *métaux alcalino-terreux et de magnésium* : Ca, Ba, Sr, Mg ; le second, les sels des *métaux alcalins* : K, Na, NH_4 . Les sels de lithium sont plutôt à cheval sur les deux groupes.

Voici quelles sont les caractéristiques de ces caséinates :

Les caséinates alcalino-terreux et de magnésium :

- 1) Précipitent par addition d'une substance insoluble finement pulvérisée et ne traversent pas les filtres de porcelaine ;
- 2) Sont opalescents en solution ;
- 3) Se troublent par la chaleur, entre 35° et 45°, trouble qui disparaît par le refroidissement ;
- 4) En récipient ouvert, sous l'action de la chaleur, donnent une « peau » à la surface de la solution ;
- 5) Réagissent avec la présure en présence d'un sel soluble de calcium.

Les caséinates alcalins de K, Na, NH_4 :

- 1) Ne précipitent pas par les poudres et traversent les filtres de porcelaine ;

- 2) Leurs solutions sont claires, transparentes, pour ainsi dire ;
- 3) Elles ne se troublent pas par la chaleur ;
- 4) Elles ne donnent pas de « peau » ;
- 5) Elles ne réagissent pas avec la présure.

Nous disions plus haut que les sels de Li étaient à cheval sur les deux groupes. En effet, sous l'action de la chaleur, les caséinates de Li se troublent légèrement.

Les caséinates d'alcaloïdes se troublent également, bien qu'ils ne réagissent pas avec la présure.

Tous les caséinates alcalins ou alcalino-terreux ont de commun qu'ils peuvent être précipités par le sulfate d'ammonium à demi-saturation, par le sulfate de magnésium à saturation ou par un excès d'alcool.

Lorsqu'on ajoute une solution d'oxalate de potassium à une solution d'un caséinate de calcium, une double décomposition s'effectue et un équilibre s'établit, lequel est évidemment sous la dépendance des températures et des masses en présence. Il y a formation de caséinate de potassium. Aussi, lorsqu'on jette la liqueur sur un filtre de porcelaine, du caséinate de potassium traverse alors que le caséinate de calcium sans addition d'oxalate de potassium ne laisse rien passer.

L'étude des caséinates de calcium peut se faire en ne considérant ces sels qu'en eux-mêmes, indépendamment de toute addition avec d'autres sels calciques, que ceux-ci affectent la forme cristalloïde : chlorure de calcium par exemple, ou la forme colloïdale : phosphates bi- et tri-calciques.

Nous verrons plus loin la préparation de ces associations.

L'opacité ou la translucidité des caséinates. — Les caséinates de calcium sont d'autant plus opaques qu'ils sont moins riches en calcium ou, si l'on veut, d'autant plus translucides que le taux de leur base est plus considérable.

L'ACTION DE LA CHALEUR SUR LES CASÉINATES CALCIQUES

Les caséinates calciques, et d'une façon générale, les caséinates des terres alcalino-terreuses, se troublent, avons-nous vu plus haut, à partir de 35°. C'est HALLIBURTON (203, 204) qui fut un des premiers à signaler ce fait que RINGER (205) a observé à son tour.

Au cours de nos recherches, nous avons été amené à constater comme les auteurs précédents que les caséinates calciques deviennent assez

(203, 204) HALLIBURTON. — Voir :

a) *Schafer's Text-Book of Physiology*, 1898, 1, 135.

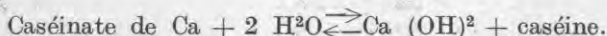
b) W. D. HALLIBURTON et T. GREGOR BRODIE. — Action of pancreatic juice on milk. *Journ. of Physiol.*, 1896, 10, 97.

(205) RINGER. — Regarding the action of lime salts on casein and on milk. *Journ. of Physiology*. 1890, 11, 464.

vite vraiment laiteux. Toutefois, par refroidissement, nous ne pensons pas qu'ils récupèrent tout à fait leur translucidité originelle, *surtout si la liqueur est restée longtemps à chaud*; mais dans son ensemble, cette dernière réserve étant laissée de côté, on peut dire que l'aspect laiteux que la liqueur avait acquis à chaud disparaît à froid.

RINGER trouve l'explication de ce fait dans ce que beaucoup de sels de calcium, pour ne pas dire la plupart, sont moins solubles à chaud qu'à froid.

W. A. OSBORNE pense que *l'opacité des caséinates de calcium à chaud est due à une exagération de la dissociation du caséinate*, l'aspect laiteux provenant de la libération par dissociation électrolytique des ions caséine :



Lorsque la température redevient normale, la dissociation régresse et la caséine libérée s'unit de nouveau aux ions Ca qui s'en étaient détachés lors du chauffage.

Comme la caséine est insoluble, c'est elle qui, sous la forme de particules très fines, donne l'aspect laiteux.

A la température ordinaire, l'ionisation du caséinate de calcium existe déjà, mais elle est faible; elle s'exagère avec l'élévation de température. Le caséinate de calcium est un sel qui est hydrolysé en solution aqueuse, tout comme un autre sel, bien qu'un de ses ions soit colloïdal.

W. A. OSBORNE démontre la dissociation du caséinate de calcium de la façon suivante :

Une solution de caséinate de calcium à 1,25 % est partagée en deux parties égales. L'une est chauffée à 40° et filtrée à cette température sur bougie de porcelaine; l'autre, chauffée à 40° est ensuite refroidie, puis ramenée à 17°, avant d'être filtrée comme la précédente. Alors que le filtrat de la seconde moitié est à peine alcalin à la phénol-phtaléine, celui de la première moitié, l'est nettement.

Nous reviendrons un peu plus loin sur la dissociation hydrolytique du caséinate de calcium lorsque nous parlerons du mécanisme de la formation de la « peau du lait ».

Il était intéressant de préciser la température à laquelle les caséinates se troublent, deviennent laiteux, de plus ou moins translucides qu'ils étaient auparavant. La transformation est-elle graduelle ou s'effectue-t-elle sur une petite marge de degrés de température ?

Nous avons utilisé trois caséinates renfermant respectivement pour 30 grammes de caséine : 400, 600 et 900 milligrammes de chaux, c'est-à-dire que nous avons préparé un caséinate *acide* de pH < 7, caséinate à 400 dont le pH = 6,00; un caséinate *neutre* puisqu'avec 600, le pH = 7,05; et un caséinate nettement *alcalin*, puisqu'avec 900 le pH = 9,10.

Nous utiliserons dans la suite de ce travail, pour la simplification de notre langage, les expressions : *caséinate à 400*, à 600, à 900, etc..., voulant

dire par là que pour une quantité de caséine toujours égale à 30 grammes par litre, nous employons ou 400, ou 600 ou 900 milligrammes de chaux.

Le caséinate à 400 est blanc laiteux, celui à 900, au contraire, est translucide.

Des petits tubes de 5 millimètres de diamètre sont accolés au thermomètre, comme pour une prise de point de fusion, et le tout est placé dans un becher, plongeant lui-même dans une capsule en porcelaine contenant de l'eau chauffée à feu nu, tout doucement, puisque pour passer de 1° à 5°, il faut environ 5 minutes, 1 minute par degré.

Les tubes ont été observés par réflexion et par transparence.

Caséinate à 400. — Par transparence vis-à-vis d'une lampe électrique forte, la teinte de la solution colloïdale est celle d'un rouge-tango, semblable d'ailleurs à celle que donnent de nombreux colloïdes minéraux ou organiques.

Jusqu'à 35°, rien de notable à signaler dans l'aspect du liquide.

A partir de 35°, la tendance à l'aspect laiteux se marque nettement. La liqueur perd par translucidité sa teinte tango.

A 45°, l'aspect laiteux est manifeste ; il est celui d'un lait écrémé dilué avec deux volumes d'eau, et la liqueur n'est pour ainsi dire plus translucide.

A 55°, elle est parfaitement opaque, et à 60°, l'aspect est celui d'un lait écrémé dilué avec son volume d'eau ; à 65°, on dirait du lait écrémé ordinaire.

Caséinate à 600. — A 30°, la liqueur commence à devenir moins translucide, moins transparente.

A 35°, elle se trouble nettement.

A 40°, le trouble qui est net s'accroît et un aspect franchement laiteux se manifeste en se développant comme pour le caséinate précédent.

A 60°, alors que le caséinate à 400 est opaque comme du lait écrémé, le caséinate à 600 ne donne jamais cette opacité, même en portant à l'ébullition.

Caséinate à 900. — La liqueur très translucide est d'une teinte légèrement bleutée par transparence. Elle paraît se clarifier un peu jusqu'à 25°, puis à 35°, brusquement, elle s'opacifie, et à 40°, elle est nettement laiteuse par réflexion.

A 50°, on dirait du lait écrémé ordinaire.

Les trois caséinates ci-dessus, chauffés rapidement jusqu'à apparence laiteuse nette reprennent sensiblement leur aspect originel quand on refroidit. Mais si l'on chauffe lentement, en dépassant 60°, en allant jusqu'à 80°, et même 90°, on note des différences très nettes entre les trois essais :

Le caséinate à 400, chauffé ainsi jusqu'à 80°, puis refroidi, redevient presque aussi translucide qu'au départ ; de même celui à 600. *Mais le caséinate à 900 ne reprend pas sa translucidité originelle.*

Ces modifications de teinte qu'on observe surtout quand on examine les solutions par transparence n'ont pas à nous surprendre, puisque nous travaillons sur des liquides colloïdaux ; elles traduisent sans doute des modifications dans les grosseurs micellaires, conséquences elles-mêmes de la dissociation électrolytique des caséinates accentuée par la chaleur.

Quant à l'explication du non-retour à la translucidité originelle du caséinate à 900 que l'on a chauffé à 80° et laissé à cette température pendant un certain temps, avant de le refroidir, elle s'explique par le fait que le caséinate à 900 étant très alcalin se décompose à chaud. Il y a une partielle saponification de la caséine avec mise en liberté de phosphates de calcium qui contribuent à donner l'opacité résiduelle. La recherche de l'acide phosphorique par le nitromolybdate sur les liqueurs acides, la caséine étant précipitée au point isoélectrique, nous montre en effet qu'il y a eu minéralisation de l'acide phosphorique, lequel s'est détaché en partie de l'ensemble protéique.

Dans le tableau ci-dessous, nous donnons d'ailleurs les *pH* et les degrés Dornic (D) des caséinates à 400, 600 et 900. Les caséinates à 400 et à 600 sont acides titrimétriquement, le caséinate à 900 est alcalin.

TABLEAU XXVII

	Degrés D	<i>pH</i>
Caséinate à 400.	11°5	6,00
» 600.	4°	7,05
» 900.	— 3°	9,05

MATURATION DES CASÉINATES. — Lorsqu'on prépare des caséinates de calcium, on constate que le *pH* pris immédiatement après la dissolution de la caséine se modifie avec le temps dans le sens de l'acidité, ce qui, à notre avis, veut dire que la réaction de la caséine sur la chaux n'est pas complète alors que la dissolution paraît l'être. La salification des fonctions acides de la caséine se fait donc graduellement, comme s'il paraissait nécessaire que des fonctions acides se libèrent ou s'ionisent complètement sous l'influence de la base apportée, avant de s'unir à celle-ci.

Au bout de 24 heures environ, le *pH* du caséinate se fixe. Nous parlions alors de la *maturation* des caséinates. Cette expression est-elle valable ?

Lorsqu'au début de nos recherches, au lieu d'utiliser l'eau de chaux pour dissoudre la caséine, nous nous adressions à de la chaux préparée extemporanément par calcination du carbonate pur, laquelle chaux était ensuite broyée dans de l'eau distillée pour en faire un lait léger, cette maturation demandait plus de temps à se faire. Quel que soit le soin pris pour broyer la caséine au sein du lait de chaux apporté goutte à goutte, des petites parcelles de chaux ne manquaient pas d'échapper à l'action mécanique du mortier, et ce n'est qu'avec le temps qu'elles étaient neutralisées par les fonctions acides de la caséine. Le *pH* du caséinate, d'abord plus alcalin qu'il n'aurait dû, baissait graduellement pour devenir stable au bout de 24 à 48 heures. Maintenant que nous employons de l'eau de chaux, cette stabilité est plus rapidement acquise. Au laboratoire, lorsque nous préparons des caséinates en vue de l'obten-

tion de complexes, nous les laissons en général à la glacière reposer pendant au moins 24 heures ; nous obtenons toujours ainsi des liqueurs très homogènes sans aucun précipité. S'il en est un, c'est que nous sommes allé trop vite dans la neutralisation de la caséine par la base ; il faut recommencer.

LA STABILITÉ DES CASÉINATES. — C'est au sens physique qu'il faut entendre ici l'expression *stabilité*. Nous aurons plus loin à revenir sur cette question lorsque nous ferons l'historique de l'action de la présure et que nous aurons à faire intervenir dans notre raisonnement l'hypothèse d'une action protectrice exercée par tel colloïde sur tel autre.

ALEXANDER (206, 207, 208, 209), dans une série de travaux, fait jouer à la protection du caséinate par l'albumine un rôle primordial dans le mécanisme de l'emprésurage. Pour lui, la présure détruit les propriétés protectrices de la lactalbumine, laquelle tient la caséine en suspension, et c'est pour cette raison qu'il y a coagulation. Ce sont ses examens ultra-microscopiques ainsi que d'autres recherches sur l'action protectrice exercée par la gélatine et la gomme arabique sur certains colloïdes minéraux qui ont conduit ALEXANDER à exprimer cette théorie.

Il semblerait donc, d'après lui, que les caséinates devraient de toute nécessité être protégés par de l'albumine. Or, l'expérience nous montre que *cette protection n'est pas indispensable*, et dans toutes les recherches d'ordre synthétique qui suivront dans ce travail, nous ne ferons nullement intervenir la lactalbumine parce que *les caséinates sont par eux-mêmes d'une très grande stabilité* et qu'il n'ont nullement besoin d'être protégés. Que dans certains laits, il y ait de l'albumine, cela est incontestable, mais si elle intervient lors de l'emprésurage, c'est simplement pour modifier, et très peu, la physionomie de la réaction biologique. En fait, nous verrons que *l'albumine a un rôle restreint ; c'est surtout la globuline qui joue un rôle protecteur marqué dans certains laits*. Nos recherches d'ordre synthétique sur le lait de femme et dont nous ne donnerons dans ce mémoire qu'un aperçu, remettant à plus tard une étude plus complète, mettront ce fait nettement en évidence. Les caséinates, encore une fois, n'ont pas besoin d'être protégés ; on peut en préparer des solutions concentrées sans qu'il y ait de précipitation. C'est ainsi que nous avons obtenu des caséinates à 100 grammes par litre, tout aussi stables que ceux à 10, 20 et 30 grammes.

(206) J. ALEXANDER. — The rennin coagulation of milk from a colloid-chemical standpoint. *Proceed. Eight Inter. Cong. Applied Chem.*, 1912, **6**, 12-14.

(207) J. ALEXANDER. — Some colloid-chemical aspects of digestion, with ultramicroscopic observations. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1910, **32**, 680-689.

(208) J. ALEXANDER. — « *Colloid Chemistry* » D. Van Nostrand C^o Edit., 1924, 2^e éd., p. 130.

(209) J. ALEXANDER. — Colloid chemistry and some of its technical aspects. *Journ. Soc. Chem. Ind.*, 1909, **28**, 280.

Nous sommes tout à fait d'accord avec PALMER et RICHARDSON (202) lorsqu'ils disent : « La facilité avec laquelle des dispersions stables de caséinates de calcium purs peuvent être obtenues, sans l'emploi de colloïdes protecteurs, en ayant des propriétés physiques et chimiques identiques à celles qu'elles ont dans le lait, en réagissant vis-à-vis de la présure et des acides comme elles le font dans celui-ci, ne peuvent pas s'accorder avec l'hypothèse d'ALEXANDER. »

En fait, nous savons déjà que le caséinate de calcium dans le lait est lui-même un colloïde protecteur, puisqu'à lui seul, sans l'aide d'albumine et de globuline, il peut protéger les phosphates colloïdaux de calcium.

LA « PEAU DU LAIT ». — Lorsqu'on chauffe les caséinates calciques dont la réaction est neutre ou aux environs de la neutralité, on voit apparaître une « peau » à leur surface à partir de 60°-65° environ. La formation de cette peau a donné lieu à de nombreux travaux contradictoires faisant jouer un rôle prédominant, tantôt aux graisses, tantôt à l'albumine, et n'attirant pas l'attention plus spécialement sur celui qui revient à la caséine ou, plus exactement, au caséinate de calcium. Dès l'instant où l'on obtient une « peau » avec des solutions pures de caséinates calciques, nul n'est besoin de faire jouer un rôle à la graisse ou à l'albumine. Une intervention de celle-là est d'ailleurs tout à fait négligeable et doit être mise hors de cause, puisque « la peau » du lait est acquise avec le lait écrémé tout aussi bien qu'avec le lait entier ; nous dirons même que la présence de la matière grasse ne tend qu'à nuire à l'examen très objectif du phénomène.

Dans une note déjà ancienne (a) et qui laissait présager un travail plus complet qui n'a pas encore paru, mais qui suivra celui-ci, nous avons montré, d'accord avec W. A. OSBORNE que ne donnent de « peau » que les caséinates dont le carbonate de la base est insoluble. Les caséinates alcalins ne donnent pas de « peau » ; seuls en donnent les caséinates alcalino-terreux et de magnésium. Il faut supposer que la chaux mise en liberté, par suite de la dissociation électrolytique du caséinate de calcium, accentuée par la chaleur, se carbonate. La « peau » du lait, disions-nous en 1911, résulterait essentiellement de la formation d'une pellicule de carbonate de calcium au sein d'une trame de caséine ou d'un caséinate calcique insoluble lequel lui donnerait la consistance et la texture que nous lui connaissons.

Nous n'insisterons pas sur ce point, réservant le détail des expériences qui nous ont conduit à cette hypothèse pour le mémoire que nous avons annoncé tout à l'heure.

Les sels à ions polyvalents sont beaucoup moins ionisés que les sels à ions monovalents. C'est ce qui fait que le caséinate de calcium est moins dissocié que le caséinate de sodium, mais il l'est suffisamment,

(a) Communication à la Section Lyonnaise de la Société Chimique de France (1911).

surtout quand la température s'élève, pour que se comprenne le mécanisme de la formation de la « peau » du lait tel que nous venons de le donner. C'est entre 60° et 65° que la « peau » commence à se montrer nettement, justement au point où, comme nous l'avons vu, les caséinates à 400, 600 et 900 mis en expérience acquièrent cette teinte laiteuse nette qui est celle donnée par le lait écrémé lui-même quand on le chauffe à la même température. C'est à ce point, en effet, que l'on peut supposer que la dissociation du caséinate commence à être prononcée ; la blancheur constatée provient alors de la mise en liberté d'ions de caséine ou d'ions de caséinate calcique fortement acide, et parallèlement de tout ou partie de la chaux précédemment liée à la protéine. On sait que *les caséinates très peu chargés en chaux sont blanc laiteux, faits de gros micelles très peu solubles.* (A suivre)

BIBLIOGRAPHIE ANALYTIQUE

1° JOURNAUX, REVUES, SOCIÉTÉS SAVANTES

PRODUCTION, HYGIÈNE

ZEILER (K.), BAUER (H.) et BERWIG (A.). — **Estimation et paiement du lait selon sa qualité.** *Milchwirtschaftliche Forschungen*. Tome 5, N° 6, p. 557-661, mars 1928.

Rapport d'essais faits pendant une année à la Laiterie de l'Institut de Laiterie de *Weihenstephan* (Bavière) pour le paiement du lait selon sa qualité. Quantité 6.500 litres par jour, fournis par 200 agriculteurs. On détermine : la propreté des pots laitiers, du lait, la féculité de conservation et la valeur pour la fromagerie. Chaque essai est affecté d'un coefficient, le maximum des points est 30. Le lait ayant obtenu 14-16 points est payé sur le prix de base de 18 pf. le kg. Pour un nombre supérieur il est alloué une prime, pour un nombre inférieur le lait subit une défalcation de prix.

Essais de qualité :

Propreté des pots laitiers : 1 fois par semaine	max.	2	points
Impuretés du lait	»	»	5 »
Essai à l'alcool	»	»	6 »
» de la réductase	2 fois par mois	»	2 »
» au lactofermentateur combiné avec la réductase	»	»	5 »
» de coagulation à la présure	»	»	10 »
		—	
		Total.....	30 »

Les résultats des essais sont consignés sur une fiche.