

# LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

## SOMMAIRE

### Mémoires originaux :

- A. TAPERNOUX. — Le diacétyle, parfum du beurre et de la margarine . . . . . 1043
- F. DIÉNERT. — Examen bactériologique des beurres . . . . . 1055
- J. PIEN et J. BACHIMONT. — Sur la recherche du *Bacterium coli* dans le lait (*Suite*) . . . . . 1058
- M. GRIMES, H. A. CUMMINS et V. C. E. KENNELLY. — Etude des champignons trouvés dans le lait, la crème et le beurre (*Suite*) . . . . . 1071

### Revue :

- G. GÉNIN. — La mousse du lait. 1079

### Bibliographie analytique :

- 1<sup>o</sup> Les livres . . . . . 1088
- 2<sup>o</sup> Journaux, Revues, Sociétés savantes . . . . . 1096
- 3<sup>o</sup> Brevets . . . . . 1101

### Bulletin bibliographique :

- 1<sup>o</sup> Journaux, Revues, Sociétés savantes . . . . . 1102
- 2<sup>o</sup> Brevets . . . . . 1104

### Documents et informations :

- M. BEAU. — La situation laitière . . . . . 1105
- H. STASSANO. — Quelques constatations relevées dans une laiterie centrale sur un appareil de pasteurisation à plaques . . . . . 1108
- R. de SAINT-CHAMAS. — Le prix de revient du lait . . . . . 1121
- Nouvel appareil pour la filtration du lait . . . . . 1128
- Nouvelle réglementation allemande concernant la caséine lactique . . . . . 1130

*Avec son prochain numéro, Le Lait entre dans sa treizième année.*

*C'est avec la plus grande satisfaction qu'il nous est donné d'enregistrer souvent des marques de confiance pour cette publication. De tous les coins du monde et des personnalités scientifiques ou industrielles les plus marquantes, Le Lait reçoit une approbation flatteuse que l'on peut considérer en quelque sorte comme la récompense de l'effort soutenu de sa rédaction tout entière.*

*En dépit des difficultés des temps présents, Le Lait n'a point arrêté son ascension, et l'importance de ses numéros, tant par l'abondance des matières qu'il publie que par la sélection qui préside à leur choix, en est la meilleure preuve.*

*Le Lait ne s'est laissé arrêter par aucune difficulté d'ordre typographique et ce n'est pas là le moindre de ses mérites en un tel moment. Il considère toujours, — c'est du moins sa ligne de conduite, — qu'il est fait pour être utile à tous ceux que la question du lait intéresse.*

*Sous quelque aspect que ce soit, nous croyons être dans la vérité en disant que Le Lait, par l'ampleur et la diversité de sa documentation, a bien montré l'importance scientifique, économique et sociale du*

sujet qu'il traite. Le Lait fait accueil à tous les travaux de France et de l'Étranger dont l'intérêt est susceptible de retenir l'attention de ses lecteurs. Ils ne sont évidemment pas tous de la même qualité, mais tous du moins renferment une idée originale ; tous font naître de la discussion qu'ils ne peuvent manquer d'engendrer, des idées souvent heureuses.

En 1933, Le Lait publiera un certain nombre de mémoires qui, — nous le pensons, — seront goûtés de ses lecteurs.

Déjà, il a inséré en sa matière une partie des travaux publiés dans le volume jubilaire en l'honneur du soixantième anniversaire de son Rédacteur en chef ; d'autres y prendront place cette année. Mais nous tenons spécialement à signaler parmi les travaux nouveaux que Le Lait insérera en 1933, un travail de M<sup>lle</sup> J. BRIGANDO sur la caséine, travail traité tant au point de vue scientifique qu'au point de vue industriel. L'auteur y montrera ce que la technique de la fabrication de la caséine peut retirer des connaissances scientifiques les plus sérieuses, les mieux assises, acquises à grand peine au cours de ces dernières années.

Notre Rédacteur en chef a déjà eu l'occasion d'annoncer la publication d'une étude sur la réaction du lait. Il n'est peut-être point de question dont l'examen approfondi permette aussi bien de pénétrer dans le détail de la structure chimique et physico-chimique du lait. Le plan de ce travail a déjà été tracé par Ch. PORCHER dans le livre jubilaire en l'honneur du Professeur ORLA-JENSEN. C'est une difficile question, que celle de l'acidité ; elle ne peut apparaître simple qu'aux yeux des personnes les moins averties, lesquelles se contentent trop souvent de ce qui court à droite et à gauche dans des articles trop superficiellement édifiés.

Le Lait a publié en 1932 une étude assez importante sur l'infection latente de la mamelle ; mais bien d'autres travaux sur les mammites doivent être connus de ses lecteurs. Un numéro spécial sur ce sujet paraîtra au cours de l'année 1933. Il n'est pas de question qui, peut-être, autant que celle des mammites, demande à être exposée avec le plus grand soin. Ses conséquences pratiques sont considérables. Les travaux qui paraîtront ou seront analysés dans ce numéro consacré spécialement aux mammites, sont surtout d'inspiration vétérinaire. Sans doute, cela est dû à ce que le vétérinaire, en contact journalier avec le bétail laitier, est bien placé pour saisir les infections, même lorsque celles-ci n'ont pas un caractère très accentué, comme cela est si souvent le cas pour celles de la mamelle. Il est curieux de constater que dans la littérature purement agricole, les mammites ne sont pas l'objet d'une très grande préoccupation. On voit les esprits s'ingénier à chercher l'explication des troubles de composition du lait, de ses mauvaises réactions vis-à-vis de la présure, dans l'alimentation notamment. Bref, on évoque des raisons physiologiques, insuffisamment

esquissées d'ailleurs, alors que la cause, de nature pathologique, existe, et qu'il est facile de la mettre en évidence. On a pu lire des notes parlant de laits alcalins ; on n'y a point découvert le souci de la recherche d'une raison pathologique à la réaction de ces derniers. Nous espérons que le numéro de la revue *Le Lait* consacré aux mammites jettera des lumières dans beaucoup d'esprits. Immenses sont les préjudices causés à la production du lait par l'infection insidieuse de la mamelle. Il est à souhaiter que l'on sache faire ce qui doit être fait pour les diminuer.

Un autre numéro de cette *Revue*, — le premier de 1933, — sera consacré à la pasteurisation. C'est une vieille histoire, dira-t-on, mais elle est toujours d'actualité. L'entrée en scène de nouvelles techniques, le désir exprimé par les hygiénistes les plus sérieux de voir se développer la pasteurisation avec toutes les conséquences qu'elle comporte, — comme la vente en bouteilles, — tout cela demande un nouvel examen.

Comme on le voit, la matière à traiter est abondante, et *Le Lait* a de quoi garnir ses pages. Il espère que ses fidèles lecteurs sauront apprécier une fois de plus le résultat de ses efforts pour faire, si possible, mieux encore que par le passé.



## MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

### LE DIACÉTYLE, PARFUM DU BEURRE ET DE LA MARGARINE (2)

par

le Professeur A. TAPERNOUX

de l'Ecole vétérinaire de Lyon.

Il est de notion courante que le beurre fabriqué dans de bonnes conditions techniques présente entre autres propriétés organoleptiques, une odeur légère qui lui est particulière et qui est agréable, en même temps qu'une saveur spéciale que les initiés qualifient de *goût de noisette*. Cet arôme particulier présente plus ou moins de finesse, suivant les fermentations qui ont présidé à la maturation de la crème qui a servi au barattage. On sait aussi que, pour discipliner la maturation de la crème, l'industrie beurrière a pris l'habitude de pasteuriser la crème destinée à la fabrication du beurre afin de supprimer toutes les fermentations anormales indésirables et d'ensemencer la crème pasteurisée avec des cultures sélectionnées de ferments lactiques qui sont chargées d'en assurer la maturation. Ce qui est certain, c'est qu'au cours de cette maturation, l'acidité de la crème se développe en même temps qu'apparaît un arôme particulier qui provient de la formation,

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

(2) Paru dans le *Volume jubilaire du Professeur Ch. Porcher*.

sous l'influence des ferments, de composés chimiques sur la nature et sur l'origine desquels nous ne sommes pas encore complètement fixés. Le beurre formé par l'agglomération des globules gras de la crème au cours du barattage, semble retenir les substances aromatiques formées, et on peut même constater que l'arome continue à augmenter d'intensité dans les jours qui suivent la fabrication. Le beurre, en effet, contient encore, à la fois, des substances fermentescibles et des ferments.

On a cherché depuis longtemps à isoler les substances aromatiques du beurre ou à substituer à cet arome naturel un parfum artificiel qui reproduirait, avec plus ou moins d'exactitude du reste, les sensations olfactives et gustatives perçues par le consommateur.

La question présentait un intérêt évident, à la fois pour l'industrie du beurre et pour celle de la margarine de table : pour la première, car tous les beurres ne sont pas doués de propriétés aromatiques semblables ; pour la seconde, afin de donner au produit des propriétés organoleptiques qui le rendent plus agréable au consommateur.

De nombreux produits chimiques ont été préconisés pour réaliser la production de l'arome ; citons l'essence de noisette, l'essence d'amandes amères (aldéhyde benzoïque), l'essence de Mirbane (nitrobenzène) et, plus récemment, la coumarine, la vanilline, l'acide butyrique et ses éthers (monobutyryne, butyrate d'isopropyle, etc.).

Dans aucun des parfums — commercialisés sous le nom d'aromes de beurre — contenant les substances précitées soit à l'état pur, soit à l'état de mélange, on n'a pu réaliser exactement l'arome spécifique du beurre. Sont particulièrement à rejeter du reste, les parfums à base d'acide butyrique ou de ses composés, qui introduisent dans la matière grasse un corps qui ne s'y trouve à l'état naturel que lorsque celle-ci est profondément altérée et qui lui donne, par conséquent, une ressemblance avec un produit en mauvais état de conservation.

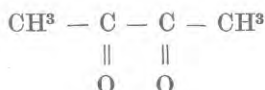
On en était donc venu à penser que la meilleure technique pour développer dans une matière grasse l'arome du beurre était de provoquer au sein de celle-ci une fermentation naturelle qui permit le développement, *in situ*, des substances aromatiques.

Depuis quelque temps, le commerce a vu apparaître de nouveaux parfums chimiques dont la base est constituée par le *diacétyle* et qui semblent présenter, à de multiples points de vue, un grand intérêt pratique, lequel nous a guidé dans l'élaboration de ce travail.

#### 1° ÉTUDE CHIMIQUE DU DIACÉTYLE.

Ce corps est également désigné sous le nom de *biacétyle*, *diméthyl-dicétone*, *dicétobutane*, *butanedione*, *diméthylglyoxal*.

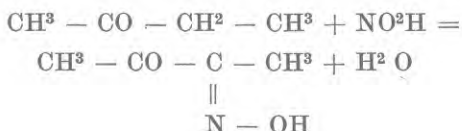
Sa formule de constitution est la suivante :



C'est le premier terme de la série des  $\alpha$  dicétones, c'est-à-dire des dicétones dans lesquelles les deux groupements cétoniques sont contigus.

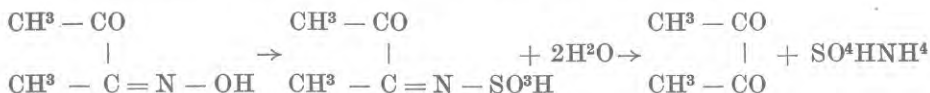
**Préparation.** — Nous n'en indiquerons que le principe, qui peut du reste être appliqué à la préparation des homologues supérieurs du diacétyle.

1° On fait agir l'acide nitreux sur la méthyléthylcétone :



On obtient ainsi la monoxime diacétylique ou isonitrosométhyléthylcétone.

2° En présence de bisulfite de sodium et d'acide sulfurique dilué, la monoxime diacétylique donne naissance au diacétyle :

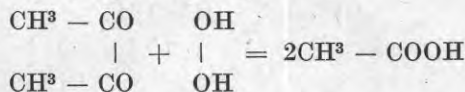


Le diacétyle est un liquide huileux de coloration jaune très légèrement verdâtre, coloration due à la présence des deux groupements carbonyle  $\text{C} = \text{O}$  en position  $\alpha$  qui jouent le rôle de chromophores. Sous l'influence de l'excitation par la lumière de WOOD, les solutions de diacétyle, même diluées à 1 p. 1.000, présentent une belle fluorescence jaune verdâtre. Sa vapeur présente la couleur du chlore et possède une odeur désagréable prononcée, rappelant celle de la quinone.

Le diacétyle à l'état de traces se caractérise au contraire par une odeur agréable rappelant à s'y méprendre l'odeur de la crème fermentée ou du beurre frais.

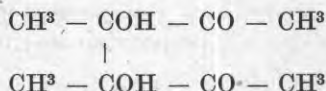
Il bout à 88° sans décomposition. Il est un peu plus léger que l'eau : sa densité à 22° est de 0,97. Il est soluble à la température ordinaire dans un peu moins de quatre fois son poids d'eau ; il est miscible à l'alcool et à l'éther. Il est également très soluble dans les corps gras.

Il s'oxyde facilement, notamment sous l'influence de l'eau oxygénée, pour donner de l'acide acétique :



Il peut être également hydrogéné facilement :

1° Avec la poudre de zinc et l'acide acétique à froid, on obtient la *pinacone* du diacétyle :



2° Avec la poudre de zinc et l'acide sulfurique dilué à chaud, on obtient l'*acétylméthylcarbinol* :



3° Une hydrogénation plus prolongée donne le glycol correspondant ou butylène-glycol :



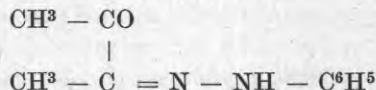
4° La réduction biochimique sous l'action des ferments des levures donne naissance à du butylène-glycol 2-3 lévogyre :



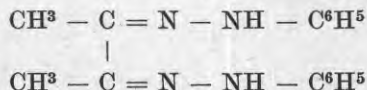
Cette action des levures sur les aldéhydes et cétones simples a été employée par NEUBERG comme méthode de réduction.

Les *métalloïdes halogènes* se substituent facilement aux atomes d'hydrogène des carbones primaires pour donner naissance à des dérivés halogénés.

La *phénylhydrazine* :  $\text{C}^6\text{H}^5 - \text{NH} - \text{NH}^2$ , en solution acétique, donne à froid dans les solutions aqueuses de diacétyle suffisamment concentrées un précipité jaune clair floconneux de *diacétylhydrazone* :

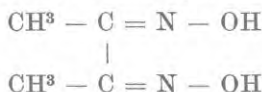


qui cristallise en prismes fusibles à 133° dans l'alcool, l'éther, le benzène. En présence d'un excès de phénylhydrazine et au bain-marie bouillant pendant 20 minutes, on obtient la *diacétylosazone* :



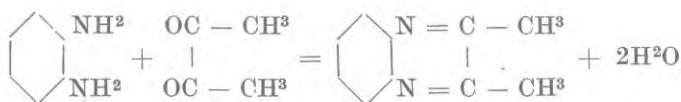
sous forme de précipité solide, qui, cristallisé dans l'acide acétique, fond à 242° en se décomposant.

Avec l'hydroxylamine :  $\text{NH}^2 - \text{OH}$ , dans les conditions que nous fixerons par la suite, on obtient la *diacétyldioxime* ou *diméthylglyoxime* :



Ce corps est un réactif particulièrement sensible et quantitatif du nickel.

Enfin, en présence des amines aromatiques, le diacétyl donne des produits de condensation. Avec l'orthophénylènediamine, notamment, on obtient des produits de condensation cycliques du groupe des quinoxalines :



## 2° RÉACTION DU DIACÉTYLE ET CARACTÉRISATION DE CE CORPS DANS LE BEURRE ET DANS LA MARGARINE.

Etant donné la constitution du diacétyl, qui se caractérise par la présence de deux carbonyles contigus, ce corps présente une affinité particulière et un grand pouvoir réactionnel. Dans le précédent chapitre, nous avons noté ses principales propriétés chimiques : certaines d'entre elles vont nous permettre de le rechercher et de le caractériser. Ce sont : 1° la formation de la *diacétylosazone* ; 2° la production du *sel de nickel de la diméthylglyoxime*.

**a) Diacétylosazone.** — Lorsqu'on a affaire à des solutions suffisamment concentrées en diacétyl (au-dessus de 1%), la préparation de l'osazone est relativement facile et peut être effectuée de la façon suivante :

A 10 cm<sup>3</sup> de solution de diacétyl, on ajoute successivement 10 gouttes de phénylhydrazine et 10 gouttes d'acide acétique cristallisable. Le mélange, placé dans un tube à essai au bain-marie bouillant pendant 20 minutes, est ensuite retiré et laissé refroidir lentement.

Immédiatement après l'addition de phénylhydrazine et d'acide acétique, on constate l'apparition d'un précipité jaune clair de diacétylhydrazone.

Lorsqu'on retire du bain-marie le tube à essai, un précipité jaune d'or s'est formé qui constitue la diacétylosazone. Celle-ci n'est généralement pas bien cristallisée, et si l'on veut en observer les cristaux et le point de fusion, il est nécessaire de recourir à la cristallisation dans l'acide acétique. Mais cette réaction de la formation de l'osazone n'apparaît pas la plus intéressante pour le cas qui nous préoccupe, de la recherche dans les beurres des petites quantités de diacétyl qui

peuvent s'y trouver. Comme nous l'avons dit, en effet, elle exige une certaine concentration du produit, concentration difficile à réaliser pratiquement.

**b) Sel de nickel de la diméthylglyoxime.** — La réaction la plus sensible du diacétyle est la formation du sel de nickel de la diméthylglyoxime, encore connue sous le nom de « réaction de LEMOIGNE ». Voici la technique indiquée par DENIGÈS, CHELLE et LABAT, pour réaliser cette réaction [2] :

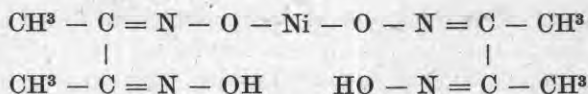
« A 3 ou 4 cm<sup>3</sup> d'une solution aqueuse de diacétyle, on ajoute XV à XX gouttes d'ammoniaque, V gouttes d'une solution aqueuse de chlorhydrate d'hydroxylamine à 20 % et V gouttes de solution de chlorure de nickel à 10 %. Faire bouillir. On obtient une coloration qui vire du bleu au violet, puis au rouge, avec formation d'un abondant précipité rouge. Ce dernier, qui est constitué par le sel de nickel de la diméthylglyoxime, n'apparaît qu'au bout de quelques heures si la quantité de diacétyle formée est faible. »

Nous avons expérimenté cette réaction suivant la technique indiquée ci-dessus et nous avons observé qu'elle est très sensible, comme l'indiquent les résultats suivants :

Concentration en diacétyle	Réaction observée
1 p. 200	+, précipité très abondant.
1 p. 400	+, précipité abondant.
1 p. 800	+, précipité faible, long à se produire.
1 p. 1.000	+, précipité faible, long à se produire.
1 p. 2.000	très faiblement +, précipité très faible et très long à se produire.

Cette réaction est donc déjà particulièrement sensible.

Le précipité rouge obtenu est formé, avons-nous dit, par le sel de nickel de la diméthylglyoxime :

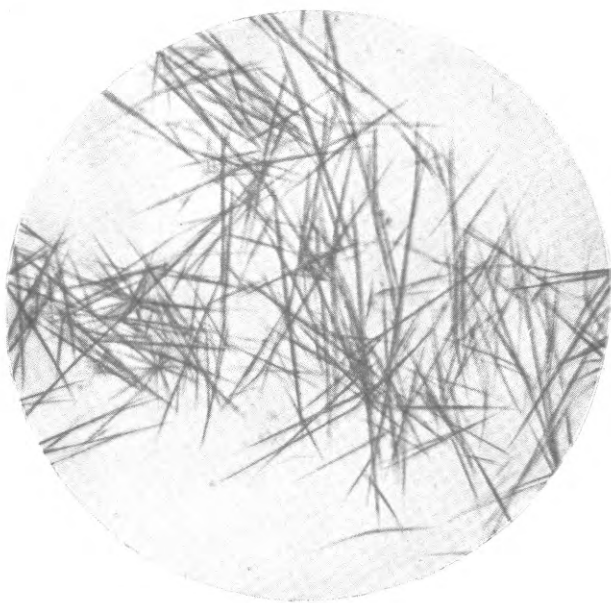


Ce précipité est quantitatif, ce qui veut dire que son obtention dans des conditions convenables, suivie de sa dessiccation et de sa pesée, permet de doser soit le nickel, soit le diacétyle, ce qui est particulièrement intéressant pour nous.

Mais, comme j'ai pu m'en rendre compte, la sensibilité de la réaction de LEMOIGNE peut être notablement augmentée en tenant compte de deux observations :

1<sup>o</sup> Quand la concentration en diacétyle est faible, il faut diluer la solution de chlorure de nickel à 1 % ou à 0,1 %, comme l'indiquent du reste TESTONI et CIUSA [6].

MICROPHOTOGRAPHIE DES CRISTAUX DE SEL DE NICKEL  
DE LA DIMÉTHYGLYOXIME.



Photographie  
de M. Auguste Lumière



2° En pratiquant l'examen microscopique du liquide après réaction, afin d'y découvrir les cristaux du sel de nickel, lesquels se présentent sous forme de belles aiguilles colorées en rouge ou en rose, comme le montre la microphotographie ci-jointe, due à l'affable bienveillance de M. Auguste LUMIÈRE.

**c) Technique de la recherche dans le beurre ou la margarine.** — La manière de procéder, pour retirer les faibles quantités de diacétyle qui peuvent se trouver dans le beurre ou la margarine, consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau dans la matière grasse fondue. La vapeur d'eau, ensuite condensée sur réfrigérant, donne une solution aqueuse contenant le diacétyle qui a été entraîné par la vapeur.

Nous opérons généralement sur 500 gr. de matière grasse ou même sur 1 kilog en cas de doses faibles non décelables sur 500 gr. Nous arrêtons la distillation lorsque 15 cm<sup>3</sup>, fractionnés en trois portions de 5 cm<sup>3</sup> chacune, sont passés. L'expérience nous a en effet montré que la totalité du diacétyle, — lorsque sa dose est de la grandeur de celles normalement contenues dans le beurre ou la margarine, — est entraînée à peu près complètement dans les 15 premiers centimètres cubes.

Lorsqu'il s'agit d'une recherche purement qualitative, on pratique sur chacune des portions de 5 cm<sup>3</sup> la réaction de LEMOIGNE en ajoutant 1 goutte de chlorure de nickel à 1 %, 3 gouttes de chlorhydrate d'hydroxylamine à 20 % et 10 gouttes d'ammoniaque concentrée et en portant à l'ébullition. Les cristaux formés, de couleur rouge, sont ensuite examinés au microscope.

Lorsqu'on veut pratiquer le dosage du diacétyle, il convient de distiller comme précédemment, par entraînement à la vapeur d'eau, la matière grasse étudiée, en faisant arriver au moins 15 cm<sup>3</sup> de distillat dans un réactif contenant :

Chlorure de nickel à 10 % .....	5 cm <sup>3</sup>
Chlorhydrate d'hydroxylamine à 20 % .....	5 cm <sup>3</sup>
Ammoniaque pure .....	15 cm <sup>3</sup>

dont on emploiera 5 cm<sup>3</sup>.

Le mélange est porté à l'ébullition, puis laissé au repos pendant 24 heures. Au bout de ce temps, le dépôt rouge formé est filtré dans un creuset à fond poreux et rincé à l'eau très chaude. On le dessèche ensuite pendant 1 heure à l'étuve à 110°-120° jusqu'à poids constant.

289 gr. de sel de nickel de la diméthylglyoxime correspondent à 172 gr. de diacétyle.

### 3° LA PRODUCTION DU DIACÉTYLE DANS LE BEURRE PAR LA FERMENTATION : L'ORIGINE DU DIACÉTYLE.

Si les parfums artificiels à base de diacétyle ont donné de si

bons résultats pour créer l'arome artificiel de beurre au sein des matières grasses, c'est que dans le beurre naturel, le développement de l'arome est dû à la formation de diacétyle par fermentation. Il est probable que le diacétyle n'est pas la seule substance qui intervienne dans le développement de l'arome naturel, mais si l'on tient compte de l'odeur très pénétrante que ce produit possède, — même à très faible dose, — on doit convenir qu'il constitue la base fondamentale de l'arome du beurre. D'ailleurs, la recherche du diacétyle dans le beurre pur a donné des résultats positifs à TESTONI et à CIUSA, qui trouvent que le beurre frais, non pasteurisé, renferme environ 0 gr. 50 de diacétyle pour 100 kilogs, et mes recherches personnelles, effectuées sur des beurres dont je suis sûr de la provenance, me permettent d'aboutir aux mêmes conclusions.

TESTONI et CIUSA prétendent même que le beurre pasteurisé, le lait et la margarine ne contiennent pas normalement de diacétyle et que la recherche du diacétyle permet de différencier un beurre ordinaire d'un beurre pasteurisé. J'ai pu cependant mettre en évidence des traces de diacétyle dans certains beurres pasteurisés. On peut aussi mettre en évidence du diacétyle dans les crèmes qui ont subi la maturation, surtout lorsque cette maturation n'est pas précédée de pasteurisation.

Il semble donc que la formation de cette substance ait lieu au cours de la fermentation de la crème. D'ailleurs, il est de connaissance courante que les cultures de certains microbes en milieux sucrés (notamment celles du groupe *lactis aerogenes*) donnent naissance à la formation de diacétyle ou à celle de son dérivé de réduction, l'acétylméthylcarbinol :



Pour déceler le diacétyle dans ces cultures — ou l'acétylméthylcarbinol, — il suffit d'en distiller un certain volume (100 cm<sup>3</sup> par exemple), auquel on aura ajouté préalablement 5 cm<sup>3</sup> de perchlorure de fer officinal, afin d'oxyder l'acétylméthylcarbinol pour le transformer en diacétyle et de réaliser sur les premières portions du distillat la réaction de LEMOIGNE avec les modifications que nous avons indiquées plus haut.

Le diacétyle provient donc de la fermentation et nous pouvons ajouter de la fermentation du lactose. Dans quelles conditions s'effectue cette transformation ? C'est ce qu'à la lumière des faits acquis sur la fermentation des sucres en général, nous allons essayer d'expliquer.

La fermentation lactique du lactose qui constitue la base de la maturation des crèmes, se traduit par l'apparition d'acide  $\alpha$  lactique aux dépens du lactose et peut être exprimée, en gros, par la formule suivante :



qui résume finalement une hydrolyse.

En réalité, les phénomènes de la fermentation sont beaucoup moins simples, et l'on sait qu'ils se caractérisent par un certain nombre d'étapes qui s'accompagnent de la formation de produits intermédiaires, lesquels disparaissent lorsque la fermentation suit son cours normal, ou ne se retrouvent à l'état final que sous forme de traces. Ces phases successives ont été bien mises en évidence au cours de la fermentation alcoolique, sous l'influence de la levure, fermentation qui présente avec la fermentation lactique de nombreux points de contact. On sait quel parti l'industrie a pu tirer de ces fermentations anormales, — dont les conditions peuvent être modifiées par la transformation du milieu de culture, — notamment en ce qui concerne la préparation du glycérol par fermentation. L'action simplificatrice des microbes s'exerce par l'intermédiaire d'un appareil catalytique ou diastasique compliqué, dont chaque élément doit intervenir au cours d'une des phases de la réaction complexe.

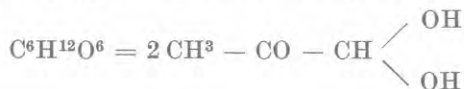
D'autre part, la faculté de produire de l'acide lactique aux dépens des sucres n'est pas particulière aux ferments lactiques, mais les organismes les plus variés de forme et de taille diverses produisent des quantités plus ou moins grandes de cet acide. La *glycolyse* par formation d'acide lactique est un phénomène tout à fait général dans le règne animal.

Sans entrer plus longtemps dans l'étude de généralités cependant très intéressantes, il est permis de penser que la fermentation lactique suit les mêmes étapes générales que celles qui président à d'autres fermentations des sucres et qui se traduisent suivant les ferments et suivant leurs conditions d'existence par l'apparition de produits divers : alcool, acide acétique, et, finalement, acide carbonique et eau.

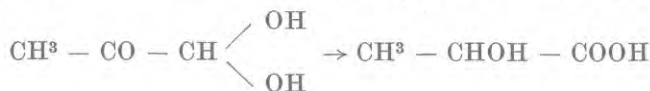
L'action doit débiter par la transformation du lactose en deux molécules d'hexose sous l'influence de la *lactase* :



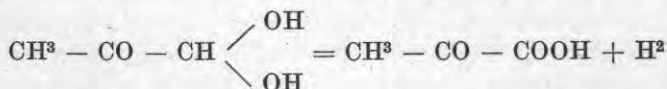
Puis, chaque molécule d'hexose est rompue en deux tronçons avec formation de *méthylglyoxal* sous sa forme hydratée :



comme C. NEUBERG et M<sup>lle</sup> KOBEL [8] l'ont montré dans des travaux tout récents. La formation d'acide lactique se produit alors aisément par oxydo-réduction intramoléculaire à partir du méthylglyoxal :

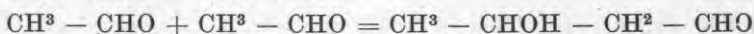


Cette réaction a pu, du reste, être obtenue dès 1913, *in vitro*, par voie diastasique et constitue une véritable stabilisation du méthylglyoxal. On peut dire que la *spécificité lactique* réside dans le fait que les ferments lactiques, après avoir réalisé la formation du méthylglyoxal, sont incapables de désintégrer ce terme de passage autrement que par sa stabilisation à l'état d'acide lactique. Cette incapacité caractérise les ferments lactiques purs. Mais à côté de ceux-ci, il en est d'autres qui sont capables d'agir sur le méthylglyoxal et qui par oxydation donnent naissance à de l'*acide pyruvique* :



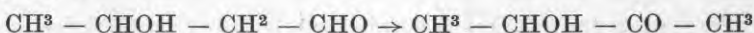
lequel peut être extrait, dans des conditions particulières, des produits de la fermentation des sucres.

Celui-ci perd facilement  $\text{CO}^2$  pour donner naissance à l'*éthanal* :  $\text{CH}^3 - \text{CHO}$ , qui peut se transformer, soit en alcool, soit en acide acétique ou en aldol. Cette dernière réaction, ou *aldolisation*, est particulièrement intéressante :

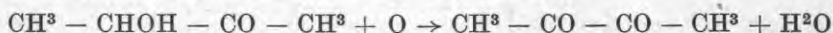


C. NEUBERG a démontré que la levure possède une diastase particulière : la *carbolygase*, capable de provoquer l'aldolisation.

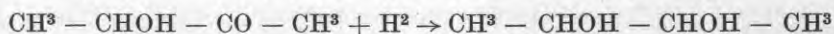
Par simple isomérisation, l'aldol se transforme en *acétylméthylcarbinol* :



et ce dernier oxydé donne naissance au *diacétyle* :



alors que par réduction, il donne au contraire le *butylène-glycol* :



On peut penser que ces deux dernières réactions sont concomitantes et s'effectuent suivant le type de réaction d'oxydo-réduction connu sous le nom de réaction de CANNIZZARO.

#### 4° CE QUE DEVIENT LE DIACÉTYLE FORMÉ OU AJOUTÉ AU BEURRE :

##### ▷ ACTION DU DIACÉTYLE SUR LA MATIÈRE GRASSE DU BEURRE.

On constate couramment que lorsqu'un beurre est doué d'un arôme assez intense, cet arôme tend à s'atténuer ou même à disparaître à mesure que se prolonge la période de conservation du produit.

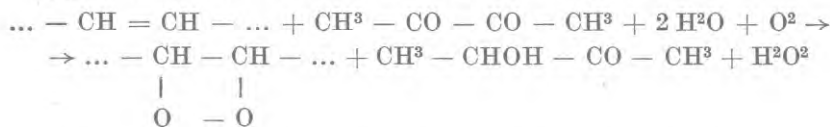
Un autre fait a également retenu l'attention des spécialistes : c'est que plus un beurre possède d'arôme, moins grande est sa faculté de conservation.

Le premier fait, la perte d'arome, s'explique par une réduction du diacétyle, qui se transforme en acétylméthylcarbinol transitoirement, puis en butylène-glycol. Il s'explique aussi par la volatilité du diacétyle, qui émet des vapeurs, même à la température ordinaire. Du reste, au cours de la fermentation de la crème, le diacétyle formé, à la fois soluble dans l'eau et dans la matière grasse, se partage entre la matière grasse et le non-beurre, de sorte qu'une partie se trouve éliminée dans le babeurre et une autre dans les eaux de lavage au moment du malaxage.

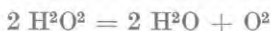
Ainsi, un beurre ou une margarine auxquels on a ajouté du diacétyle, peuvent, examinés à une période éloignée de leur fabrication, ne plus renfermer trace de ce corps. Il est donc toujours indiqué au cours de la recherche, de transformer en diacétyle par le perchlorure de fer, l'acétylméthylcarbinol qui peut s'être formé. On peut ajouter à 500 gr. de beurre, 10 cm<sup>3</sup> de solution officinale de perchlorure de fer.

De plus, le diacétyle provoque ou favorise l'altération de la matière grasse : les expériences de N. KING [4] démontrent que — soit à la lumière, soit à l'obscurité, quoique plus lentement — l'addition de diacétyle à la matière grasse provoque la décoloration de la matière grasse et l'apparition de l'odeur de suif, en même temps que deviennent positives sur cette dernière les réactions de KREIS, de FELLEBERG, et la réaction à l'iodure de potassium pour la recherche des peroxydes.

KING explique cette altération par la fixation d'oxygène sur les liaisons éthyléniques de l'acide oléique et sur la matière colorante de la graisse, qui — nous le savons — appartient au groupe des pigments carotinoïdes, riches en liaisons éthyléniques, alors que l'hydrogène se fixe sur le diacétyle et sur l'oxygène de l'air. L'hydrogène et l'oxygène nécessaires à la réaction sont fournis par l'eau :



L'eau oxygénée formée serait ensuite transformée en eau :



Cette transformation peut expliquer ce qui s'observe sur les graisses conservées pendant un certain temps, de préférence à la lumière solaire, et l'altération si fréquente des beurres : odeur de suif et décoloration.

##### 5° L'UTILISATION INDUSTRIELLE DU DIACÉTYLE ET CONCLUSIONS.

L'addition de diacétyle artificiellement préparé, à faible dose,

au beurre et à la margarine communique à ceux-ci l'arome du beurre. SCHMEIDLER [5], pour le beurre, préconise l'addition du parfum au moment du barattage : on peut employer, soit le diacétyle, soit l'acétylméthylcarbinol, en escomptant une oxydation ultérieure qui transformera ce dernier corps inodore en diacétyle. En raison de la solubilité du diacétyle dans l'eau, l'addition au moment du barattage exige l'emploi de doses plus fortes que celles qui se retrouveront dans le beurre ou la margarine. D'autre part, les faibles doses ne doivent pas être dépassées, car nous avons vu que le diacétyle catalyse les réactions d'altération de la matière grasse.

L'industriel possède avec le diacétyle un moyen pratique d'assurer à sa fabrication les qualités d'arome qui peuvent lui manquer de façon à attirer et retenir l'attention du consommateur.

En ce qui concerne les beurres, l'aromatisation au diacétyle ne s'est pas encore bien développée dans notre pays, mais j'ai l'impression, — sans pouvoir assurer d'une façon absolue que le diacétyle retrouvé est du diacétyle artificiellement ajouté, — que de nombreux beurres étrangers qui arrivent sur nos marchés et qui sont très prisés des consommateurs, ont été aromatisés.

En ce qui concerne la margarine, l'addition de faibles doses de diacétyle donne au produit une odeur agréable, sans aucun inconvénient pour la santé du consommateur. La question de l'interdiction de l'emploi du diacétyle dans l'industrie de la margarine s'est posée, mais je ne vois pas, — étant donné que l'addition de 10 % de beurre, que le malaxage avec du lait sont permis, — comment on pourrait prouver que le diacétyle retrouvé à l'analyse provient d'une addition artificielle. Il en est de même pour les beurres du reste. Il convient donc d'être très prudent, si l'on veut interdire le diacétyle, ce qui me semble exagéré, car aux doses infinitésimales où il est employé, il ne peut avoir aucun inconvénient sur la santé.

Les mêmes réflexions peuvent être développées en ce qui concerne les brevets pris pour l'utilisation industrielle du diacétyle et de l'acétylméthylcarbinol.

En résumé, les industries laitière et margarière possèdent dans le diacétyle un produit qui, s'il présente certains inconvénients, que j'ai signalés, permet d'assurer néanmoins à la fabrication, un arome identique à l'arome naturel du beurre et, par conséquent, facilite la standardisation et l'amélioration des fabrications.

Comme ce produit est utilisé par les pays étrangers sur une large échelle, nous estimons qu'il doit être aussi porté à la connaissance de notre industrie nationale, afin que s'établisse une concurrence loyale, sur nos marchés nationaux et sur les marchés extérieurs.

## BIBLIOGRAPHIE.

- [1] J. SCHMIDT. *Traité de chimie organique* (traduction), Albin Michel, éd., 1928.
- [2] G. DENIGÈS, L. CHELLE et A. LABAT. *Précis de chimie analytique*, 6<sup>e</sup> édition, Maloine, éd., Paris, 1930.
- [3] M. SCHOEN. Problèmes de spécificité dans les processus de fermentation. *Annales de l'Institut Pasteur*, décembre 1931.
- [4] N. KING. L'action du diacétyle sur la matière grasse du beurre. *Milchwirtschaftliche Forschungen*, 29 mai 1931, **12**, 172 et suivantes.
- [5] C. SCHMEIDLER. Recherches récentes sur l'arome du beurre. An. in *Chimie et Industrie*, septembre 1930, **24**, 3.
- [6] G. TESTONI et W. CIUSA. Détermination du diacétyle dans le beurre. *Ann. chim. applicata*, 1931, **21**, 147-150.
- [7] H. LEMOIGNE. Assimilation du saccharose par les bactéries du groupe du *B. subtilis*. Fermentation butylène-glycolique. *Annales de l'Institut Pasteur*, **27**, 856.
- [8] C. NEUBERG et M<sup>lle</sup> KOBEL. Die desmolytische Bildung von Methylglyoxal durch Hefenzym. *Biochem. Zeitschr.*, 1928, **203**, 463.
- [9] C. NEUBERG et E. REINFURTH. Eine Neue form der Umwandlung des Acetaldehyds durch gärende Hefe. *Biochem. Zeitschr.*, 1923, **143**, 553.
- [10] VAN NIEL, KLUYVER et DERE. *Biochem. Zeitschr.*, 1929, **210**, 234.
- [11] SCHMALFUSS et BARTHMEYER. *Biochem. Zeitschr.*, 1929, **216**, 330.

---

**EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE DES BEURRES (1)**

par

F. DIÉNERT.

La fièvre typhoïde est une maladie dont l'origine est le plus souvent attribuée à l'eau consommée. C'est en se basant sur cette étiologie qu'on a amélioré considérablement la nature des eaux distribuées dans la plupart des villes et, dans ces dernières années, dans un grand nombre de villages.

La composition bactériologique des eaux potables ne doit pas renfermer certains germes pathogènes ou suspects. Le *B. Coli communis*, hôte habituel de l'intestin des animaux et des hommes, doit être absent de ces eaux.

D'autres causes étiologiques ont été ajoutées à l'eau d'alimentation, en particulier les huîtres et les coquillages, les salades, le lait, les fromages blancs, le contact direct.

Depuis la guerre, la surveillance hygiénique des huîtres a été officiellement organisée et semble donner des résultats intéressants. On s'efforce d'obtenir des produits exempts de *B. Coli communis*.

La surveillance des coquillages est plus difficile à organiser. On se heurte à des intérêts multiples, moins groupés que pour les huîtres.

(1) *Bulletin de l'Académie de Médecine*, séance du 19 juillet 1932.