

RECHERCHES SUR LA CASÉINE

par Mlle J. BRIGANDO

Docteur ès Sciences de l'Université de Lyon,
Chef de Travaux à l'Institut des Recherches Agronomiques.

(Fin.)

* * *

ACTION DE LA PRÉSURE SUR LES CASÉINATES DE SODIUM, DE POTASSIUM ET D'AMMONIUM.

La présure agit sur la caséine, qui a besoin d'être salifiée afin de se présenter sous une forme dissoute ou pseudo-dissoute à l'attaque du lab. La nature du cathion uni à la caséine importe peu. Le caséinate à faire attaquer par la présure peut être alcalino-terreux, magnésien ou alcalin, à condition, bien entendu, que la réaction de la liqueur soit toujours d'un pH favorable à l'action de la présure, c'est-à-dire au-dessous de 7,5, ou, préférablement, ≤ 7 .

Les recherches de cet ordre que nous avons effectuées ont porté, les unes sur la caséine-acide préparée par nous, les autres sur de la caséine industrielle, en vue de l'étude de la transformation de la caséine-acide en caséine-présure, dont nous connaissons le principe.

On avait pensé que le caséinate de calcium est plus facilement attaqué par la présure que le caséinate alcalin, dans l'hypothèse où le calcium serait un ion particulièrement favorable à l'action lytique du lab. Il n'en est rien, en réalité, et l'expérience nous montre que les caséinates alcalins de sodium, de potassium, d'ammonium sont aussi facilement attaqués par la présure que les sels calciques.

La préparation de ces caséinates a de l'intérêt en vue de l'obtention de la paracaséine, et dans le but de préparer des complexes coagulables par la présure.

La dissolution de la caséine pure, préparée au laboratoire, dans la soude, la potasse ou l'ammoniaque, se fait très aisément, plus facilement que lorsqu'il s'agit de la préparation du caséinate calcique. Toutefois, il est préférable que la base alcaline soit diluée afin que la réaction, même localement, ne dépasse jamais le pH 7.

Mais s'il reste néanmoins facile, au laboratoire, de dissoudre la caséine pure dans la chaux, il n'en est pas de même pour les caséines industrielles. Par contre, ces dernières pourront être dissoutes plus facilement dans les alcalis.

Quand on prépare des caséinates alcalins avec la caséine commerciale, il est toujours recommandé, en vue de faciliter les opérations et notamment la rapidité de la solution, d'avoir une

poudre aussi fine que possible et de la faire gonfler au préalable par macération dans l'eau tiède, afin de constituer une pâte épaisse.

Les sels alcalins de caséine ne coagulent pas par la présure, puisque la formation du caillé exige la présence d'un sel de calcium soluble en quantité suffisante. Si l'on tient à obtenir une coagulation sous l'action de ce ferment, en partant du paracaséinate d'ammonium ou de sodium, il faut faire un apport calcique, dont l'importance est sous la dépendance de la masse sodique en présence. Elle diminue à mesure que le quantum des sels sodiques s'abaisse au profit du quantum des sels calciques. En d'autres termes, si nous avons en présence, d'une part, le caséinate de sodium seul, et, d'autre part, un mélange de caséinate de sodium + caséinate de calcium et que dans les deux cas nous ayons même masse de caséine et même *pH*, il faudra, pour l'emprésurage de l'un et l'autre système, davantage de chlorure calcique dans le premier cas que dans le second.

L'allure de ces réactions est, en somme, sous la dépendance des masses chimiques en présence. Il faut que le système ait une quantité déterminée de calcium soluble pour que la paracaséine précipite.

En partant du caséinate de sodium auquel on ajoute du CaCl_2 , nous arrivons à un équilibre semblable à celui que l'on obtient en partant du caséinate de calcium auquel on ajoute du NaCl , dès l'instant que les masses de caséine, de calcium et de sodium sont les mêmes.

Nous préparons un caséinate à 560 mgr. de chaux au litre, soit $M/100$, et un caséinate de sodium à 800 mgr. de soude (soit $2M/100$).

Au premier, nous ajoutons $2M/100$, soit 1 gr. 17 de NaCl au litre, et au second $M/100$ de CaCl_2 , soit 1 gr. 11 au litre. Le caséinate de sodium + 1 gr. 11 de CaCl_2 par litre donne, sous l'action de la présure, un caillé mou, fragmenté, qui se dépose au fond du tube. La coagulation est incomplète.

Le caséinate de calcium + 1 gr. 17 de NaCl donne un caillé d'aspect identique au précédent.

Il est nécessaire d'augmenter l'apport en CaCl_2 dans les deux systèmes. Nous ajoutons à chacun d'eux 1 gr. 11 de CaCl_2 , soit $M/100$.

Le caséinate de soude + 2 gr. 22 de CaCl_2 après cette nouvelle addition de CaCl_2 coagule en un bloc très ferme sous l'action de la présure.

Le caséinate de calcium + 1 gr. 17 de NaCl + 1 gr. 11 de CaCl_2 donne un caillé extrêmement ferme, dans les mêmes conditions.

Le sel de calcium soluble peut être apporté sous une autre forme que celle de chlorure et les considérations que nous avons fait valoir plus haut, au sujet d'un passage possible de la caséine-acide à la caséine-présure, nous permettent de comprendre toutes les modalités de réalisation qui peuvent être envisagées. C'est ainsi qu'au caséinate de sodium, on peut ajouter un excès de chaux et faire barboter CO_2

pour réaliser un système qui coagule parfaitement par la présure lorsque la masse de bicarbonate calcaïque est suffisante.

Partant d'un caséinate d'ammonium, nous avons procédé aux expériences suivantes :

Ce caséinate de *pH* plus petit que 7 a été divisé en trois parties égales : la première a été emprésurée et, après refroidissement, on y a ajouté CaCl^2 à raison de 1 gr. 75 au litre.

Pour la deuxième, nous avons fait l'inverse de l'opération précédente, c'est-à-dire que nous n'avons emprésuré qu'après avoir ajouté au caséinate d'ammonium le CaCl^2 dans les mêmes proportions.

Pour la troisième, nous avons précipité la paracaséine du paracaséinate d'ammonium, au point isoélectrique.

Nous allons maintenant comparer les cendres des caséines obtenues :

Dans les expériences I et II, nous avons eu un caillé assez translucide, adhérent. Dans l'expérience III, la précipitation se fait à basse température, dans la glace fondante, et nous obtenons un précipité granuleux, blanchâtre, de paracaséine. Ces précipités ont été rassemblés, séchés, et voici quels sont les chiffres de cendres obtenus :

	Humidité	Cendres pour 100 gr. de caillé
I	9,80 %	3,60
II	7,80 %	3,80
III	6,10 %	0,57

Dans les expériences I et II, que l'addition du chlorure de calcium se fasse avant ou après l'emprésurage, nous obtenons des chiffres de cendres voisins.

La caséine-présure, dans l'expérience III, n'est que de la paracaséine dont le taux de minéralisation est faible.

Dans une autre expérience, nous avons préparé un caséinate d'ammonium. D'une partie I, nous avons précipité la caséine au point isoélectrique ; une seconde portion, II, a été emprésurée, puis nous en avons précipité la paracaséine au point isoélectrique ; enfin, avec une troisième portion, III, nous avons fait un complexe phosphatique, par addition d'eau de chaux et neutralisation ultérieure de celle-ci par l'acide phosphorique ; puis nous avons emprésuré.

Voici quels sont, au point de vue humidité et cendres, les résultats obtenus :

	Humidité	Cendres % calculées sur le produit sec
Caséine	8,8	0,76
Paracaséine	6,1	0,64
Complexe phosphatique	6,8	6,64

Le taux de cendres, dans cette caséine phosphatique, est inférieur à celui que

nous obtenons d'habitude et qui se rapproche de 7,50. L'explication en est facile à trouver. C'est que nous avons suffisamment de calcium pour provoquer la formation d'un gel lors de l'emprésurage, mais insuffisamment pour que ce gel ait toute la charge calcique qu'il aurait si, au lieu de partir du caséinate d'ammonium, nous étions partie d'un caséinate de calcium.

Nous croyons intéressant de donner ici les techniques que nous avons suivies pour la préparation de la paracaséine, du paracaséinate de calcium et du paracaséinate de calcium + phosphate de calcium, non plus cette fois au laboratoire, mais en usine, sur des quantités semi-industrielles avec de petites cuves de 200 à 250 litres.

* * *

PRÉPARATION SEMI-INDUSTRIELLE DE LA PARACASÉINE, DU PARACASÉINATE DE CALCIUM ET DU PARACASÉINATE DE CALCIUM + PHOSPHATE DE CALCIUM.

PRÉPARATION DE LA PARACASÉINE. — Nous préparons d'abord un caséinate de sodium ou d'ammonium d'un $pH < 7$, en partant soit d'une bonne caséine d'acidification naturelle, soit d'une caséine d'acidification provoquée par une des méthodes ci-dessus indiquées. Nous conseillons l'emploi de l'ammoniaque, de préférence à la soude.

Les quantités théoriques, calculées pour 1 kg. de caséine sèche, sont :

- | | |
|-----------------------------------|--------|
| a) Pour le caséinate de sodium : | |
| Soude | 26 gr. |
| b) Pour le caséinate d'ammonium : | |
| Ammoniaque | 11 gr. |

Si l'on part de caséine sèche, il est préférable qu'elle soit en farine. On en fait une pâte en laissant tomber la caséine dans l'eau et en agitant. Le volume d'eau égale 10 litres environ. On ajoute les solutions de soude ou d'ammoniaque, diluées de 10 fois leur volume d'eau, sans précaution spéciale, en agitant. Il faut seulement faire attention de ne pas dépasser le $pH = 7$, que l'on contrôle par le bleu de bromothymol et le rouge de phénol, si l'on n'a pas de potentiomètre. Avec le bleu de bromothymol, on doit avoir une teinte bleu verdâtre et avec le rouge de phénol, une teinte jaune rosé. Il est recommandé, la dissolution étant terminée, de passer le liquide sur toile, pour retenir les grains de caséine qui peuvent rester.

Pour l'emprésurage, on chauffe à 30° ; on ajoute 10 cm³ de présure diluée avec 100 cm³ d'eau ; on laisse 10 minutes.

Pour la précipitation, on peut employer l'acide chlorhydrique. La quantité théorique pour 1 kg. de caséine sèche est de 23 gr. 7. Cet acide est dilué dans 50 fois son volume d'eau.

On dilue également au préalable la solution de paracaséinate à 30 litres environ. On envoie de l'eau dans le double fond de la cuve, pour la refroidir. L'acide dilué est ajouté assez rapidement, en agitant. On s'arrête à l'obtention d'un sérum clair. La durée de précipitation est de 15 à 20 minutes.

La paracaséine est cuite à 65° ; pour cela, on fait arriver de la vapeur dans le double fond de la cuve, sans arrêter l'agitation qui ne doit pas être trop vive.

On règle la cuisson et l'agitation, de façon à obtenir un grain régulier. Vers 50°, il faut ralentir l'arrivée de la vapeur ; c'est le point délicat du chauffage. La durée de la cuisson doit être d'une heure environ. Celle-ci terminée, on remplit la cuve d'eau froide, en même temps qu'on envoie de l'eau froide dans le double fond. On arrête alors l'agitation. On décante la moitié du liquide. On remplit de nouveau la cuve d'eau froide. Pour ces lavages, on emploie de l'eau chlorhydrique, de pH voisin de 4,7-5. Il nous a fallu 1 gr. 50 de HCl pour 10 litres d'eau. On agite quelques minutes et on décante. On lave encore une fois la caséine par décanation, on la retire, on la presse, on la sèche. Le grain se presse et se sèche facilement.

Cette technique, qui a été utilisée sur plusieurs kilogrammes de caséine, est industriellement facile et peut être réalisée sur de grandes quantités. Ce produit nouveau peut être intéressant dans ses applications, que l'avenir précisera.

PRÉPARATION DU PARACASÉINATE DE CALCIUM. — On prépare d'abord un caséinate de calcium de réaction alcaline :

Caséine	1 kg.
Chaux	0,036

On fait un lait de chaux que l'on titre. Si l'on part de la caséine sèche, on en fait d'abord une pâte, comme il est indiqué dans l'expérience précédente. On ajoute le lait de chaux en agitant, on complète le volume : 25 à 30 litres environ, avec l'eau de la conduite. Il est recommandé de passer le liquide sur toile pour retenir les grains de caséine non dissous.

La **neutralisation du caséinate alcalin**, pour en ramener le $pH \leq 7$, est effectuée avec de l'acide acétique (36 gr.) dilué dans 100 fois son volume d'eau.

On s'arrête au $pH = 6,8$ environ, que l'on contrôle par le bleu de bromothymol et le rouge de phénol. L'addition d'acide se fait assez lentement et le liquide est agité vivement. On doit avoir un liquide homogène.

Pour l'**empresurage**, on chauffe à 40°. On ajoute 10 cm³ de présure diluée à 100 cm³, de façon à avoir une coagulation en 15 minutes. On arrête l'agitation aussitôt que la présure est bien mélangée au liquide.

Pour la **cuisson**, le caillé bien formé est disloqué par agitation. On cuit à 65° en réglant l'agitation et la cuisson de façon à avoir un grain régulier. Comme dans l'expérience précédente, une fois le chauffage terminé, on remplit la cuve d'eau froide en même temps qu'on en fait arriver dans le double fond et on n'arrête l'agitation que lorsque le produit est refroidi.

Si on s'avisait de procéder à plusieurs lavages avec de l'eau, la consistance ferme des grains du paracaséinate calcique que nous venons d'obtenir, deviendrait pâteuse ; les grains, qui ont déjà de la tendance à se coller les uns aux autres, s'aggloméreraient fortement et le séchage du produit deviendrait impossible. L'eau ajoutée a uniquement pour but de refroidir le produit et nous avons trouvé qu'il était préférable d'additionner l'eau d'acétate de calcium, à raison de 2 gr. par litre.

Le paracasinate calcique est rassemblé, après que l'eau a été évacuée, puis pressé et séché.

PRÉPARATION DE PARACASÉINATE DE CALCIUM + PHOSPHATES DE CALCIUM. — On prépare d'abord un caséinate de calcium de réaction très alcaline :

Caséine : 1 kg.

Chaux : 0 kg. 036.

Pour les détails de l'opération, il faut se reporter à la préparation antérieure.

On neutralise le susdit caséinate, avec de l'acide phosphorique (26 gr.), jusqu'au $\text{pH} < 7$.

L'emprésurage se fait à 40°, avec 10 cm³ de présure diluée à 100 cm³.

Le caillé disloqué par agitation, est cuit à 65°. On règle l'agitation et la cuisson dans le but d'obtenir un grain régulier. On lave simplement une fois, avec l'eau de la conduite. La caséine est ensuite pressée et séchée.

Cette technique nous paraît sans grand intérêt industriel, l'industrie fabriquant de très belles caséines-présure. Nous avons tenu à en parler pour montrer que l'on pouvait réaliser en grand la préparation du complexe phosphatique que Ch. PORCHER obtient au laboratoire.

* * *

SUR L'ESSAI BIOCHIMIQUE DE LA CASÉINE-PRÉSURE.

Par essai biochimique, nous entendons celui qui a pour but de nous montrer si la caséine soumise à notre examen est une caséine-acide ou une caséine-présure. Il est bien entendu, avant d'entrer dans tout autre développement, que la caséine-présure examinée ne doit pas être formolée, sinon, l'essai biochimique ne pourrait être réalisé. Nous avons été conduite à entreprendre semblable essai par une question qu'un industriel, fabricant de caséine-acide, nous posa ; on proposait à cet industriel de faire utiliser directement la caséine-acide en vue de l'obtention de matières plastiques.

Deux échantillons nous furent soumis ; nous les appellerons A et B. Le A est une caséine lactique qui aurait servi à fabriquer la caséine B.

La caséine A est un produit opaque, teinté en jaune, qui a une odeur de produit fermenté.

L'échantillon B nous est livré en sachet. C'est un produit pulvérisé en semoule demi-fine, partiellement colorée. Certains grains ressemblent à des débris de verre, d'autres sont colorés en jaune très pâle, d'autres enfin en rouge franc. Tous ces grains sont translucides.

cides. Le dosage de l'humidité et des cendres donne les chiffres suivants :

	Humidité	Cendres pour 100 gr. de produit anhydre
Caséine A.....	11,3	3,32
Caséine B	14,9	8,60

Il apparaît tout d'abord que la caséine A a été chargée en matières minérales ; a-t-elle, de plus, subi l'action labique ?

L'étude des cendres s'imposait. Nous y avons caractérisé la présence de l'acide phosphorique et de la chaux, et, à l'état de traces, nous y avons trouvé de la silice, de l'acide sulfurique et de la magnésie. Le dosage du phosphore, de l'acide phosphorique et de la chaux nous a donné, dans les cendres des deux produits A et B, les chiffres suivants :

Caséine A :

P^2O^5 pour 100 gr. de caséine anhydre : 1,99.

Chaux : pour 100 gr. de caséine anhydre : 0,62.

Caséine B de transformation :

P^2O^5 pour 100 gr. de caséine anhydre : 4,28.

Chaux : pour 100 gr. de caséine anhydre : 4,10.

D'après ces dosages, nous voyons que 2 gr. 29 en P^2O^5 et 3 gr. 48 en chaux, pour 100 gr. de caséine anhydre, ont été ajoutés à la caséine A pour la transformer en caséine B.

L'analyse chimique des produits A et B nous engage déjà à penser qu'il s'agit bien pour B de caséine-présure. Celle-ci fait l'objet de l'essai biochimique qui suit :

Nous rappelons que si le passage de la caséine-acide à la caséine-présure est toujours possible, l'inverse n'est point. La transformation subie par la caséine sous l'influence labique est irréversible.

La question qui se pose est celle-ci : *la caséine B a-t-elle subi l'action de la présure ?*

Le principe sur lequel nous nous appuyons pour résoudre cette question répond à tout ce que nous avons dit au début de ce travail.

Voici le principe de la technique suivie.

La caséine à essayer est dissoute avec précaution dans l'ammoniaque dilué, en évitant tout excès de la base pour ne pas altérer la protéine. Cette dissolution étant réalisée, nous n'attendons pas que tout soit dissout pour ne pas prolonger l'action de l'ammoniaque. On centrifuge et on précipite la caséine de la liqueur surnageante, au point isoélectrique.

Cette caséine précipitée est lavée, puis dissoute dans l'eau de

chaux. Nous en faisons un caséinate de calcium d'un $pH < 7$, et nous déterminons ensuite quelle est la quantité de $CaCl^2$ nécessaire pour précipiter le caséinate ainsi formé.

D'après nos recherches signalées plus haut, si cette caséine n'a pas été transformée par la présure en paracaséine, il faut une charge supérieure à 5 gr. de $CaCl^2$ par litre pour précipiter le caséinate. Dans le cas contraire, si nous nous trouvons en présence de paracaséine, la quantité de $CaCl^2$ nécessaire pour la précipitation est inférieure à 1 gr.

La caséine soumise à notre examen se dissout mal dans l'ammoniaque ; de ce fait nous pouvons penser à sa grande charge minérale et qu'il s'agit peu probablement de caséine-acide.

La partie dissoute est séparée, par centrifugation, du résidu non attaqué. De la liqueur, nous précipitons la caséine par HCl étendu, au $pH = 4,7$. Le produit obtenu est centrifugé, lavé à l'eau, à l'éther, et séché.

Avec ce produit : caséine ou paracaséine ? nous faisons son sel de calcium, de $pH < 7$. A cette solution calcique, nous ajoutons goutte à goutte et en agitant, une solution de $CaCl^2$ à 2 gr. 20 au litre. Tous calculs faits, il faut, pour obtenir une précipitation complète, une quantité de $CaCl^2$ de 0 gr. 95 au litre, chiffre qui se trouve dans les limites indiquées ci-dessus pour la précipitation d'un paracaséinate calcique. Le produit obtenu est plastique, filant, et ressemble tout à fait au paracaséinate calcique.

Une expérience de contrôle a été faite qui consiste, avec le produit préparé comme il a été dit ci-dessus, à faire un complexe de son sel calcique et de phosphate de calcium. Si ce que nous avons extrait de la matière soumise à notre examen est vraiment de la caséine-acide, nous obtenons purement et simplement le complexe habituel : caséinate de calcium + phosphate de calcium ; mais s'il s'agit de paracaséine, nous savons que nous n'obtiendrons pas une liqueur homogène, mais que le paracaséinate précipitera avant que tout l'acide phosphorique ait été ajouté.

La quantité d'acide phosphorique que nous utilisons dans la préparation du complexe ordinaire est de 720 mmgr. de PO^4H^3 par litre, pour 30 gr. de caséine et 1.100 mmgr. de CaO .

Dans le présent essai, nous obtenons la précipitation d'un produit plastique, bien avant que la quantité de 0 gr. 720 de PO^4H^3 ait été ajoutée, et le pH du sérum trouble que nous obtenons est de 7,4.

La caséine soumise à notre examen était donc bien de la paracaséine, et si vraiment elle dérivait d'une caséine-acide, ce ne pouvait être qu'après avoir été chargée en phosphate de chaux et transformée sous une action fermentaire labique.

* * *

ÉTUDE SUR L'ACIDITÉ DES CASÉINES INDUSTRIELLES.

Nous aurions pu, dans ce chapitre, parler des divers essais chimiques relatifs au dosage de l'humidité, des cendres, de la matière

grasse et de l'acidité. Mais nous entendons nous limiter uniquement à la question de l'acidité.

En ce qui concerne l'humidité, les cendres, la matière grasse, on trouvera dans les livres dont la référence est donnée dans ce travail, ainsi que dans la collection de la Revue « Le Lait », des travaux originaux et des analyses portant sur ces différents points.

La détermination de l'acidité des caséines, en dehors du point de vue purement analytique, est affaire d'interprétation des résultats et les chiffres qui sont donnés sont tout de relativité.

Les développements dans lesquels nous sommes entrée au début de notre travail nous ont renseignée sur les différences de nature et de composition chimique, existant entre la caséine-acide et la caséine-présure. Nous allons retrouver une différence tout aussi nette en ce qui concerne l'acidité.

Il ne s'agit ici que d'*acidité titrable* ; il n'est pas possible de déterminer, potentiométriquement, l'acidité de la caséine-acide et de la caséine-présure, les produits étant insolubles. Remarquons toutefois que, lorsque ceux-ci sont imprégnés, peut-on dire, de l'acide qui a servi à les préparer, dans le cas de la caséine-acide, ou qui est intervenu lors de l'emprésurage, dans le cas de la caséine-présure, l'eau de macération de l'une et de l'autre caséine renferme sinon la totalité de l'acide qui imprègne la trame protéique, du moins une partie. Cet acide est de l'acide lactique d'origine fermentaire, ou encore de l'acide chlorhydrique, de l'acide sulfurique ou de l'acide acétique, dans le cas de l'acidification provoquée. Potentiométriquement, l'eau de macération nous donnerait un *pH* variable qui pourrait nous guider dans la détermination du taux de l'acide résiduel.

Dans la détermination de l'acidité titrable, nous avons à distinguer : l'acidité propre de la caséine-acide et l'acidité relevant de l'acide résiduel qui a servi à précipiter la caséine. Il importe donc de bien dissocier ces deux acidités. Déjà, dans les recherches personnelles dont nous avons donné les résultats plus haut, relativement à la fabrication semi-industrielle des caséines-acides, nous avons montré combien était grande l'influence des lavages.

Admettons que nous obtenions, dans les meilleures conditions, une caséine-acide et une caséine-présure : la caséine-acide parfaite, théoriquement pure, doit être, nous le savons, absolument déminéralisée. La caséine-présure parfaite, obtenue avec un bon emprésurage d'un lait normal, nullement acide, est, au contraire, minéralisée et renferme une charge saline faite presque uniquement de chaux et d'acide phosphorique, dont le taux minimum doit être 7,50 % de la masse anhydre.

Il nous reste, d'une part, à comprendre pourquoi la caséine-acide et la caséine-présure n'ont pas la même acidité et, d'autre part, à expliquer les différences présentées par les diverses caséines commerciales.

Le rappel que nous venons de faire de ce que doivent être la caséine-acide pure, que nous avons dite parfaite, et la caséine-présure également parfaite, nous permet déjà de comprendre, sans pénétrer dans le détail, que l'acidité titrable de l'une doit être très différente de l'acidité de l'autre. La caséine-acide, dénuée de substances minérales, a, en puissance, toutes ses acidités libres; la caséine-présure, qui est minéralisée, a un certain nombre de ses acidités bloquées par la minéralisation.

Ceci dit, considérons d'abord la caséine-acide théoriquement pure, et déterminons-en son acidité titrable.

Les recherches de nombreux auteurs ont montré que le nombre de centimètres cubes de soude N/10 nécessaires pour dissoudre 1 gr. de caséine pure préparée au laboratoire, et atteindre le virage de la phénol-phtaléine, est, en chiffres ronds, de 9. Le virage à la phénol-phtaléine se fait aux environs du $pH = 8,2-8,3$. Pour avoir une teinte rouge vif, il faut dépasser nettement 9 cm^3 ; c'est 9,6 environ qu'il faut prendre.

Si, prenant 1 gr. de caséine, il faut, pour passer du $pH = 4,6$, point isoélectrique de la caséine bien préparée, au $pH = 8,2-8,3$, 9 cm^3 de soude N/10, il en faut donc 900 cm^3 pour 100 gr. de caséine, lesquels correspondent à 8 gr. 10 d'acide lactique. *Nous dirons, par suite, que 100 gr. d'une caséine anhydre absolument pure, non minéralisée, a une acidité titrable, par rapport à la phtaléine du phénol, traduite en acide lactique, de 8 gr. 10.*

Il est important de faire remarquer qu'il s'agit là d'une convention, car le taux de l'acidité dépend, en premier lieu, de l'indicateur coloré choisi. Si nous en prenions un autre dont le virage se fait à un pH différent, ce n'est plus 8 gr. 10 que nous obtiendrions. Disons en outre que si la caséine dont nous avons à déterminer l'acidité n'est pas pure, si elle est chargée d'humidité, si elle contient des cendres, humidité et cendres tendent à abaisser le taux théorique de l'acidité déterminée ci-dessus. Il est donc important, lorsque nous définissons l'acidité d'une caséine par titrimétrie et que nous voulons obtenir un chiffre aussi exact que possible, de doser, au préalable, l'humidité et la charge saline, afin de rapporter le taux de l'acidité au produit sec et déminéralisé.

Nous venons de raisonner dans l'hypothèse où la caséine soumise à l'analyse est pure et ne possède aucune acidité résiduelle. Or le fait est rare et, pour les produits qui ne sont pas de premier choix, ou qui sont mal lavés, il y a toujours une acidité résiduelle, faite d'acide

lactique s'il s'agit de caséine d'acidification spontanée, d'acide chlorhydrique, d'acide sulfurique ou d'acide acétique, s'il s'agit de caséines préparées par précipitation provoquée.

L'acidité résiduelle qui se superpose ainsi, au cours de la titration, à l'acidité propre de la caséine, est assez facilement soluble dans l'eau. Elle passe dans la macération aqueuse de la caséine, ce qui nous permet sa recherche qualitative et son dosage. Nous pouvons savoir ainsi par quel procédé la caséine-acide a été préparée.

Il est évident qu'une caséine-acide impure, fortement minéralisée, trop humide, qui est chargée d'une forte acidité résiduelle, peut avoir, par titrimétrie, une acidité exagérée et il importe de disséquer celle-ci en acidité propre relevant de la protéine, et en acidité surajoutée appartenant à l'acide qui a servi à la préparation. Cette dissection nous conduit au dosage séparé de l'acidité de la macération aqueuse.

Le plus souvent, la caséine-acide commerciale a une acidité plus faible que l'acidité théorique. Il résulte en effet des développements dans lesquels nous sommes entrée un peu plus haut, que si une caséine-acide, lactique ou autre (chlorhydrique, sulfurique, etc.), n'est pas pure et que son impureté tiennent à ce qu'elle renferme de la caséine partiellement salifiée, c'est-à-dire, un caséinate de faible charge saline la quantité de soude nécessaire, — compte tenu de l'humidité et de la charge saline, — pour obtenir le virage de la phénol-phtaléine est d'autant moindre que la caséine analysée est plus chargée en matières minérales, plus caséinate que caséine.

Poussons plus loin notre raisonnement, parce qu'il va nous amener à comprendre ce qu'il faut entendre par acidité de la caséine-présure. Partons, par exemple, d'une caséine partiellement salifiée, qui correspond à un caséinate de $pH : 7$ environ. Ce caséinate, lors de la titration vis-à-vis de la phtaléine du phénol, absorbe encore de la soude, pour passer du $pH = 7$ au $pH = 8,2-8,3$. Voici les calculs qui nous ont permis de déterminer l'acidité théorique de la caséine-présure.

Nous avons vu que 100 gr. de caséine pure ont une acidité correspondante, en acide lactique, à 8 gr. 10 *vis-à-vis de la phénol-phtaléine*. Si, au lieu de partir de la caséine pure, nous partons d'une caséine partiellement salifiée, d'un caséinate de pH voisin de 7, déterminons ce qu'il faut de soude pour obtenir le virage à la phénolphtaléine, en d'autres termes, pour passer du $pH = 7$ au $pH = 8,2-8,3$.

Des recherches antérieures nous ont montré que 1 gr. de caséine pure, pour passer du $pH = 4,6-4,7$, point isoélectrique, au $pH = 7$ environ, exigent une quantité de soude N/10 correspondant à 6 cm³ 65. La différence avec les 9 cm³ de soude N/10 nécessaires

pour atteindre le $pH = 8,2$ représente 2 cm^3 35 de soude N/10, lesquels, traduits en acide lactique et calculés pour 100 gr. de caséine-présure, donnent, pour celle-ci, une acidité de 2 gr. 10.

Cette acidité traduit presque tout à fait l'acidité de la caséine-présure vis-à-vis de la phénolphtaléine. Une correction serait cependant nécessaire puisque, dans ce produit commercial, il y a du phosphate calcique insoluble qui n'est pas partie intervenante.

* * *

Après avoir théoriquement établi ce qu'était l'acidité titrable des caséines-acide et des caséines-présure, l'avoir traduite numériquement en acide lactique pour 100 gr. de caséine, il nous reste maintenant à confronter les différents procédés. Nous n'en retiendrons que quelques-uns : celui de A. CHOLLET (39), celui de BROWNE (40), et ceux par épuisement (DEFLEURS, A. TAPERNOUX) (41).

Procédé du titrage direct à chaud (A. Chollet). — Cet auteur rappelle que DORNIC et DAIRE, qui s'étaient occupés plus spécialement du dosage de l'eau, de la matière grasse et des cendres contenues dans les caséines industrielles, avaient relevé une importante cause d'erreurs, tenant à l'influence de la grosseur des grains de caséine sur les résultats analytiques. Le dosage de l'acidité, nous dit CHOLLET, se heurte à la même difficulté. Voici le procédé recommandé par lui :

« Dans une fiole conique d'environ 50 cm^3 préalablement séchée et tarée, on pèse 2 gr. de caséine à la présure, pulvérisée aussi finement que possible, ou 1 gr. de caséine lactique également pulvérisée. On ajoute 10 cm^3 d'eau et, ensuite, quelques gouttes de phénolphtaléine ; on fait tomber dans la fiole, goutte à goutte, la soude de l'acidimètre Dornic, jusqu'à coloration rouge. On chauffe sur bec Bunsen en agitant, jusqu'à décoloration. On ajoute encore de la soude titrée, on chauffe et on continue ainsi jusqu'à ce qu'on obtienne une teinte rose persistant après refroidissement. La caséine est alors complètement désagrégée ; elle forme une gelée ne présentant plus de grains.

« Rappelons que la soude employée dans l'acidimètre Dornic est de la soude N/9 dont 1 cm^3 neutralise exactement 0 gr. 010 d'acide lactique et que la burette de l'appareil est graduée en dixièmes de centimètre cube. Supposons qu'avec une caséine-présure, nous ayons employé 4 cm^3 de soude titrée pour obtenir la teinte rose persistante. Les 2 gr. de caséine ont une acidité de 0 gr. 04 exprimée en acide lactique, et 100 gr. de caséine une acidité de 2 gr., soit 2 %.

(39) *Le Lait*, 1928, 8, 21.

(40) F. L. BROWNE, The proximate Analysis of Commercial Caseins. *J. Ind. Eng. Chem.*, 1919, 11, 1019, et SUTHERMEISTER, p. 279.

(41) L'acidité de la caséine industrielle. *Le Lait*, 1929, 9, 265.

« On peut aussi employer une burette quelconque graduée en dixièmes de centimètre cube et de la soude N/10 ; dans ce cas, en prenant les 9/10 du nombre trouvé, on aura l'acidité exprimée en acide lactique.

« Avec ce procédé d'analyse, on ajoute l'acidité propre de la caséine à l'acidité due à la présence de l'acide lactique, mais dans la pratique industrielle cela ne paraît pas avoir d'importance. Par contre, on obtient les mêmes nombres, avec la même caséine, quelle que soit la grosseur du grain. Il y a seulement intérêt à broyer finement les caséines, de façon à opérer plus rapidement.

« La caséine à la présure a, en employant cette méthode, une acidité variant de 1,5 à 3 %, suivant que la caillebotte a été plus ou moins bien lavée ; l'acidité de la caséine lactique est le plus souvent comprise entre 6 et 8 % . »

Procédé du titrage en retour (Browne). — « L'échantillon de 1 gr, est placé dans un flacon et additionné de 25 cm³ d'une solution de soude N/10. Pendant cette addition, le flacon est agité doucement. Il est alors bouché et l'agitation continue jusqu'à ce que la solution soit complète. Le bouchon est alors enlevé et il est lavé à l'eau d'une pissette. On ajoute 100 cm³ d'eau distillée neutre à la phtaléine et la solution est titrée en retour avec de l'acide N/10, en employant 0,5 cm³ d'une solution alcoolique de phénolphtaléine (1 %) comme indicateur. L'acide est ajouté rapidement pendant qu'on agite vigoureusement le flacon afin de prévenir la précipitation de caillé et de n'avoir que de fins flocons. Le nombre de centimètres cubes d'alcali N/10 employés pour 1 gr. de caséine libre d'humidité, de graisses et de cendres, est appelé l'acidité de l'échantillon.

« Pour opérer le dosage dans les conditions dont nous venons de parler, plusieurs précautions doivent être prises. Le flacon doit être conservé bien bouché, sauf quand on ajoute la soude ou quand on procède au titrage. La quantité d'indicateur ne doit pas être différente de celle qui a été spécifiée plus haut. La coagulation locale de la caséine durant la titration doit être évitée, et le temps pendant lequel la caséine reste en contact avec l'alcali ne doit pas excéder 30 minutes, à la température ordinaire. »

Procédé par épuisement. — Ainsi que le montre M. DES-FLEURS (42) — ce que nous avons d'ailleurs fait remarquer plus haut — la caséine industrielle, plus ou moins minéralisée, a une acidité propre à laquelle s'ajoute une acidité libre due à l'acide du sérum retenu.

« Il nous semble donc bien que deux dosages soient nécessaires : l'un donnant l'acidité libre, l'autre l'acidité totale, la dernière détermination ne pouvant remplacer la première puisque l'acidité propre de la caséine n'est pas constante.

« Mais dans le dosage de l'acidité libre d'une caséine industrielle, y a-t-il une différence due à la grosseur des grains de la caséine ?

« Pour répondre à cette question, nous avons pris un échantillon de caséine-acide en gruau, tamis 30. Nous en avons broyé une partie que nous avons blutée au tamis 120. Nous avons dosé l'acidité libre sur le gruau tamis 30 et sur la farine tamis 120 — ce qui représente à peu près l'extrême des moutures courantes du commerce — de la manière suivante :

« Un gramme de caséine est pesé exactement, dans une fiole

tarée. On verse avec une pipette 50 cm³ d'eau distillée. On laisse macérer 24 heures en agitant doucement de temps à autre, de manière à ne pas projeter de caséine sur les parois. Au bout de ce temps, on filtre sur papier sans cendres, sec, et l'on dose l'acidité sur 25 cm³ du filtrat avec une liqueur basique titrée N/10 en présence de II gouttes de solution de phtaléine du phénol à 1 %, comme indicateur. On trouve ici 1 cm³ 4 pour le gruau et la farine, soit 2 cm³ 8 N/10 par gramme.

« Nous n'avons pas constaté de différence et n'en avons jamais constaté, à condition de laisser suffisamment longtemps la caséine en contact avec l'eau. Il y en aurait une si le temps de macération était très court. Le fait est dû, croyons-nous, à ce que la caséine gonfle considérablement dans l'eau, ce qui favorise la diffusion de l'acidité, quelle que soit la grosseur des grains. »

M. DESFLEURS, pour le dosage de l'acidité totale, dissout la caséine, de préférence à froid, dans un excès connu de liqueur basique titrée et il neutralise en retour avec une liqueur acide titrée. C'est la méthode de BROWNE recommandée également par H. ULEX (43).

La méthode par épuisement ayant en somme pour but de faire passer dans l'eau l'acide étranger à la caséine, — acide résiduel, en somme véritable impureté, — avait été utilisée également par LUNGE, ainsi que par W. HÖPFNER et K. JAUDAS (44). Ces derniers auteurs ayant remarqué que dans le dosage de l'acidité des caséines par macération dans l'eau on obtient des résultats trop forts, par suite de la dissolution des matières albuminoïdes qui se combinent à l'alcali, proposèrent de laisser macérer la caséine dans l'alcool à 95 % saturé d'acétate de soude et de titrer une partie aliquote du filtrat.

A. TAPERNOUX recommande la technique suivante, à laquelle il s'est provisoirement arrêté :

« On pèse exactement 1 gr. de caséine préalablement pulvérisée au moulin à café, de façon à obtenir toujours un grain identique à lui-même. Introduire la quantité pesée dans une capsule de nickel et mettre à macérer avec 10 cm³ d'eau distillée, en chauffant légèrement et en agitant. Laisser déposer la caséine et décantier le premier liquide dans un tube à essai. Ajouter 10 cm³ d'eau distillée sur la caséine, et répéter la même opération en recueillant le liquide décanté dans le même tube à essai.

« Renouveler une troisième fois la même opération. Ajouter au liquide III gouttes de phtaléine du phénol et titrer avec la soude Dornic.

« Supposons qu'on ait trouvé 12° D. On rapportera le résultat à 100 gr. de caséine en disant que cette caséine renferme 1 gr. 2 d'acide lactique pour cent.

(43) *Chemiker Zeitung*, 1925, 49, 641.

(44) *Chemiker Zeitung*, 1925, 49, 281.

S'il s'agissait d'une caséine aux acides, on pourrait exprimer le résultat en acide sulfurique en multipliant 1 gr. 2 par 0,54. Dans le cas de l'acide chlorhydrique, il suffirait de multiplier 1 gr. 2 par 0,41.

« En employant cette technique, les caséines à la présure donnent des résultats extrêmement faibles : 1/10 de cm³ de soude Dornic suffit à faire rougir la phénolphtaléine.

« Quant aux caséines lactiques, l'acidité est essentiellement variable; elle est en moyenne de 6° à 12° D. Ces résultats varient, évidemment, avec la plus ou moins grande perfection des opérations de lavage. »

Voilà quelles sont les trois techniques essentielles du titrage, avec leurs variantes.

ESSAIS PERSONNELS.

Nous avons utilisé les trois techniques que nous venons d'exposer, sur des caséines lactiques ou des caséines-présure obtenues dans diverses conditions. Les résultats sont rassemblés dans le tableau suivant :

TABLEAU XXXIII.

RÉSULTATS COMPARÉS DES MÉTHODES DE BROWNE, DE CHOLLET ET PAR ÉPUISEMENT POUR LE DOSAGE DE L'ACIDITÉ DES CASÉINES.

	Humi- dité pour 100 gr. de caséine	Cen- dres pour 100 gr. de caséine	Acide lactique en gr. calculé pour 100 gr. de caséine anhydre et sans cendres		
			Browne	Chollet	Epui- sement
I. — Caséine-acide pure prépa- rée au laboratoire.....	16	0,23	8,10	8,10	Néant
II. — Caséine lactique	6,74	2,50	8,70	8,22	0,80
III. — Caséine-acide Surgères ..	9,86	2,10	9,67	9,10	2,10
IV. — Caséine-présure préparée au laboratoire (non lavée) ..	5,56	9,57	6,67	6,90	2,18
V. — Caséine-présure préparée au laboratoire (lavée)	7,17	7,80	2,42	2,90	0,36

Le dépouillement de ce tableau a son intérêt. Il nous montre notamment la grande différence qu'il y a, d'une part, entre une caséine-acide pure préparée au laboratoire et une caséine indus-

trielle. Peu de cendres dans la première ; dans la seconde, un chiffre 10 fois plus fort. L'acidité, calculée en acide lactique, est théorique pour la première ; pour la seconde, elle dépasse le chiffre théorique ; mais il nous faut noter que, du chiffre trouvé, nous devons défalquer la quantité d'acide dosée par épuisement. On constatera alors que le chiffre provenant de cette différence est inférieur au chiffre théorique : 8,10, certainement à cause du taux des cendres, qui implique une salification partielle de la caséine.

Les mêmes observations doivent être faites sur la caséine n° III.

En ce qui concerne les caséines-présure, la comparaison est également intéressante. L'échantillon n° IV a été préparé au laboratoire avec un lait qui était peut-être déjà un peu acide, mais nous ferons remarquer que la caséine obtenue n'a nullement été lavée. Pendant les opérations de filtration, broyage, dessiccation, l'acidification du sérum retenu dans les mailles du caillé n'a pu que s'exagérer et par épuisement nous avons, en effet, une acidité élevée qui calculée en acide lactique est de 2 gr. 18 %. Si nous défalquons ce chiffre de ceux que la technique BROWNE (6,67) et la technique CHOLLET (6,90) nous ont permis d'obtenir, les différences qui sont respectivement de 4,72 et 4,49 dépassent de beaucoup le chiffre théorique 2,10 donné plus haut de l'acidité d'une caséine-présure pure.

L'échantillon V a des chiffres presque théoriques : le taux des cendres est de 7,80, voisin de celui 7,50 donné par le standard américain ; quant à l'acidité, si nous défalquons les 0 gr. 36 trouvés par épuisement, nous avons, pour la technique de BROWNE, 2 gr. 06, et pour celle de CHOLLET, 2 gr. 54, voisins du chiffre théorique de l'acidité d'une caséine-présure.

Nous avons également fait quelques recherches sur la méthode par épuisement, dans des circonstances un peu différentes qui sont rassemblées dans le tableau XXXIV.

Nous voyons que la température joue un rôle. Si l'on chauffe, nous pouvons craindre qu'à l'action purement physique de dissolution de l'acidité résiduelle non protéique, vienne s'ajouter une action hydrolytique, car, au quatrième épuisement, nous avons encore une acidité soluble dans l'eau. Nous constatons que le premier épuisement dans les cas I, II et III donnent des chiffres presque identiques.

Afin de contrôler la méthode d'épuisement à la température ordinaire, nous avons fait l'expérience suivante :

Nous avons broyé 1 gr. de caséine pure préparée au laboratoire (échantillon n° 1 du tableau XXXIII) sans aucune acidité résiduelle avec 1 cm³ d'une solution d'acide lactique contenant 0 gr. 92 de cet acide. Nous avons laissé en contact

TABLEAU XXXIV.

MÉTHODE PAR ÉPUISEMENTS.

Caséine-présure. — Humidité : 5,56. Cendres : 9,57.

	1 ^o épui- sement	2 ^o épui- sement	3 ^o épui- sement	4 ^o épui- sement	Total
I. — Epuisement par 50 cm ³ d'eau distillée, 1 gr. de caséine, chauffage au bain-marie 1/4 d'heure à 60°	1,94	0,50	0,27	0,16	2,87
II. — Epuisement par 50 cm ³ d'eau distillée pour 1 gr. de caséine, chauffage au bain- marie à 40°	1,90	0,30	0,15	0,15	2,35
III. — Epuisement à la tempé- rature ordinaire :					
a) Chaque épuisement est ef- fectué par 3 malaxages dans un petit mortier avec 10 cm ³ d'eau distillée	1,94	0,24	Néant		2,18
b) Autre épuisement (un seul) à la température ordinaire : durée de la macération dans l'eau : 3 heures	1,99				

pendant 1 heure environ et, au bout de ce temps, nous avons procédé à trois épui-
sements à l'eau distillée, à la température ordinaire. Nous avons retrouvé un chiffre
d'acide lactique de 0 gr. 96 un peu supérieur à la quantité d'acide ajouté.

Il semblerait que la méthode par épuisement à la température
ordinaire puisse donner satisfaction pour le dosage de l'acidité
résiduelle des caséines.

La chose importante de la présente étude est, à n'en pas douter,
la détermination de l'acidité résiduelle, de celle qui est en surcharge,
de l'acidité titrable appartenant en propre à la caséine-acide ou à
la caséine-présure. Le dosage de l'acidité totale titrable, qui rassemble
l'acidité de l'édifice protéique et celle de l'acide résiduel, n'a pas,
au fond, une grande signification ; c'est celui de l'acidité obtenu
par épuisement qui a le plus d'importance à nos yeux. Si cette aci-
dité est faible, il y a des chances pour que le produit ait été pré-
paré avec un lait frais, et qu'il ait été également bien lavé. Si elle
est élevée, le produit peut avoir été préparé avec un lait acide, mais
aussi il peut avoir été travaillé dans de mauvaises conditions, mal
pressé, mal lavé.

Pour nous résumer, nous dirons donc que l'opération principale est celle de la détermination de l'acidité résiduelle. Nous conseillons la méthode par épuisement à la température ordinaire ; nous recommandons de procéder à froid, avec trois épuisements au maximum. Dans ces conditions, nous pouvons dire que nous avons des chiffres valables pour les comparaisons à établir sur une suite d'échantillons.

CONCLUSIONS.

1° La caséine existe dans le lait à l'état de caséinate calcique uni étroitement, dans un complexe colloïdal, avec le phosphate bicalcique.

2° C'est sur le complexe que portent :

- a) L'action des acides ;
- b) L'action de la présure,

pour l'obtention, respectivement, de la caséine-acide et de la caséine-présure.

3° Théoriquement, la préparation de la caséine-acide se ramène à une solubilisation du phosphate bicalcique, en phosphate monocalcique, et à une décalcification progressive du caséinate calcique.

4° L'acide qui intervient dans la fermentation spontanée du lait est l'acide lactique. Pour l'acidification provoquée, on peut, dans l'industrie, recourir à l'acide sulfurique, à l'acide chlorhydrique ou à l'acide acétique.

5° Théoriquement, la caséine-acide est de la caséine pure, sans la moindre charge minérale. Pratiquement, il n'en est généralement pas toujours ainsi. Les caséines-acides que l'on rencontre sur les marchés ont des compositions très différentes et le taux de leur minéralisation est quelquefois élevé.

6° Théoriquement, la caséine-présure est une association de deux sels : l'un, le paracaséinate calcique, obtenu par dédoublement du caséinate calcique originel du lait ; l'autre, le phosphate bicalcique, qui est entraîné par le paracaséinate calcique, lors de la précipitation de ce dernier.

7° La caséine-présure ne peut être qu'un produit minéralisé et l'excellence de sa préparation est fonction du taux élevé de ses cendres.

8° On doit estimer à 7,5 % le taux minéral minimum des caséines-présure. Un taux inférieur à celui-ci indique que la caséine-présure obtenue a été préparée en partant d'un lait ayant une acidité acquise.

9° Les caséines-présure peu minéralisées sont obtenues avec des laits acides.

10° Un lait acide, neutralisé convenablement par un lait de chaux, sans dépasser l'acidité du lait normal, donne, par emprésurage, un produit marchand de bonne qualité.

11° L'essentiel du premier temps de la préparation de la caséine-acide, selon la technique du laboratoire, se ramène à ceci :

1° On précipite à basse température ;

2° La répartition de l'acide est régulière.

12° Les recherches faites sur des quantités semi-industrielles nous montrent que, pour la préparation de la caséine-acide obtenue par acidification provoquée :

a) Il n'y a pas une différence marquée dans le taux des cendres, que l'*agitation*, lors de l'apport d'acide, soit vigoureuse ou lente ; il est cependant préférable d'avoir une agitation suffisante pour répartir rapidement l'acide apporté, dans l'ensemble de la masse.

b) La concentration de l'acide n'a pas d'influence sensible sur le taux des cendres de la caséine.

c) C'est la température qui a l'influence la plus marquée ; plus la température de précipitation est élevée, plus le taux des cendres est grand.

d) Les lavages sont à recommander dans la préparation, tant de la caséine-acide que de la caséine-présure. Pour l'obtention d'une caséine-acide peu minéralisée, il est préférable de terminer les lavages avec de l'eau distillée, légèrement acidulée par l'acide chlorhydrique, afin que son $pH = 4,7$.

e) La cuisson du grain, lors de la préparation de la caséine-acide, a pour but de raffermir le produit en même temps que de le purger d'une grande partie de sa charge minérale provenant du sérum inclus. Cette cuisson peut s'effectuer au sein du sérum ou dans une eau chlorhydrique de $pH = 4,7$.

La plus importante de ces conditions est celle qui touche à la température, aussi nous conseillons de précipiter le lait à une température aussi basse que possible, ne dépassant pas 25°. Toutes les méthodes industrielles connues précipitent le lait à une température élevée : 45°, 52°, 57°. Seul, le procédé américain du « grain curd » opère à une température ne dépassant pas 34°. Dans ce procédé, le grain n'est pas cuit ; mais on se trouve dans l'obligation de recourir à l'emploi de la centrifugeuse ou d'un grand nombre de tamis d'égouttage.

Nous conseillons de cuire le grain dans son sérum, à 45°-50°, ce qui, par la suite, en facilite énormément le travail. Si on a soin de

régler l'agitation pendant la cuisson, le produit obtenu est granuleux ; il se presse bien et se sèche facilement.

13° Le taux beaucoup plus élevé de la charge minérale des caséines-acides d'acidification provoquée, lorsqu'on opère à chaud, tient à ce que, en réalité, c'est un caséinate calcique moins riche en chaux que le caséinate originel du lait, qui a été précipité.

14° Pour obtenir une caséine-acide dont le taux minéral soit aussi bas que possible, nous recommandons d'opérer non seulement à basse température, comme il a déjà été dit, mais il est préférable d'amener la réaction du lait légèrement au-dessous du point isoélectrique de la caséine, vers un $pH = 4,2-4,0$.

15° La charge minérale du paracaséinate calcique oscille autour de 4 %, le chiffre trouvé est très voisin du chiffre calculé.

16° En ayant recours aux caséinates alcalins (de potassium, de sodium ou d'ammonium) il est possible d'obtenir des complexes qui coagulent parfaitement par la présure, à condition de les additionner d'une quantité suffisante de chlorure de calcium. Celle-ci est sous la dépendance étroite de la quantité de cations alcalins en présence.

17° L'emprésurage réalisé avec les caséinates alcalins (K, Na, ou NH^4) additionnés de chlorure de calcium, nous montre que le taux des cendres varie nettement avec la vitesse de coagulation. L'emprésurage lent donne toujours une charge minérale moindre.

18° La paracaséine est obtenue par acidification d'une solution de caséinate alcalin, de $pH \leq 7$, après action de la présure sur ce dernier.

19° Le paracaséinate de calcium est obtenu par l'emprésurage d'une solution de caséinate calcique de $pH \leq 7$ et précipitation ultérieure par addition de chlorure calcique.

20° L'essai biochimique d'une caséine se ramène essentiellement à l'obtention de son sel calcique et à la recherche de la sensibilité de ce dernier vis-à-vis du chlorure de calcium.

21° La caséine-acide tout à fait pure, dégagée de toute charge minérale, a une acidité titrable correspondant à 8 gr. 10 d'acide lactique pour 100 gr. de produit sec.

22° La caséine-présure a une acidité titrable correspondant à 2 gr. 10 d'acide lactique pour 100 gr. de produit sec.

23° Il importe de distinguer, dans l'acidité titrable d'une caséine, qu'elle soit acide ou d'emprésurage, la part qui appartient en propre à l'édifice protéique et celle qui relève d'une acidité résiduelle venant d'une mauvaise préparation.