

solidification de la matière grasse. Appliquer l'épreuve A, en utilisant 0 cm³ 5 de la couche aqueuse.

Lorsque le beurre n'est pas plus vieux que deux semaines, l'épreuve de la phosphatase peut servir à déterminer si le beurre a été fait de crème crue ou de crème pasteurisée.

d) Fromage. — Des expériences sont en cours en vue de l'application de l'épreuve au fromage. Dans le fromage fait de lait cru, de notables quantités de phosphatase sont présentes pendant deux mois au moins après la fabrication.

REVUE

UNE MÉTHODE PRÉCISE POUR LA DÉTERMINATION DU CAROTÈNE DANS LE FOURRAGE

par G. GÉNIN
Ingénieur-Chimiste E. P. C.

10.
11.
10

On sait que le carotène est un des constituants parmi les plus importants du fourrage par l'influence qu'il exerce sur la composition du lait et du beurre qui en est extrait. Il n'est donc pas étonnant que l'on ait cherché à mettre au point des méthodes simples et rapides de dosage de ce produit. MUNSEY [1] a publié récemment une étude sur les méthodes décrites pour ce dosage ; mais toutes ces méthodes ne donnent de bons résultats que si des précautions tout à fait spéciales sont prises. La méthode de GUILBERT [2] donne également de bons résultats, toutefois, elle a l'inconvénient d'imposer l'emploi d'éther éthylique pour l'extraction du carotène, du mélange saponifié. La modification apportée à cette méthode par PETERSON et HUGHES [3] supprime l'emploi de l'éther éthylique et le carotène est extrait directement du mélange saponifié au moyen d'éther de pétrole, malheureusement, il y a, dans ce cas, formation d'émulsions et perte de carotène.

Il nous a donc semblé utile d'indiquer une nouvelle modification apportée à ce mode opératoire et due à D. W. BOLIN et A. M. KHALAPAR, modification qui a été employée avec succès pendant plusieurs années dans les laboratoires de ces auteurs [4]. Le nouveau procédé a l'avantage, par l'emploi de quantités définies de réactif, d'éviter la formation d'émulsion et de donner des résultats plus précis.

Mode opératoire.

On traite, au reflux, un échantillon de 5 à 10 grammes pendant 40 minutes avec 200 cm³ d'alcool éthylique à 95-97%. On filtre

la solution alcoolique chaude sur un papier-filtre Whatman n° 31 placé sur un entonnoir Büchner, on lave le résidu avec de l'alcool éthylique chaud jusqu'à ce que le filtrat alcoolique devienne limpide; 150 cm³ d'alcool éthylique chaud sont en général suffisants. On complète le volume du filtrat à 400 cm³ et on en place la moitié dans un flacon jaugé de 250 cm³, puis on ajoute 25 cm³ de potasse alcoolique à 10%. On agite et on laisse reposer la solution alcaline pendant 2 heures à la température ordinaire afin que la saponification soit complète; ou encore, on place le flacon pendant une demi-heure dans de l'eau chaude à 80° pour hâter la saponification. On laisse refroidir et complète au trait marqué.

On place alors 25 cm³ de la solution alcoolique saponifiée contenant le carotène dans un entonnoir à décantation de 100 cm³. On ajoute 15 cm³ d'éther de pétrole bouillant à 40-50° et on agite le mélange vigoureusement. On ajoute 7 cm³ d'eau au contenu de l'entonnoir et on agite à nouveau vigoureusement. On recueille la solution alcoolique dans un autre entonnoir et on extrait à nouveau 2 fois avec 10 cm³ d'éther de pétrole. La dernière extraction doit être colorée.

Des essais ont montré que le carotène est presque entièrement séparé par la première extraction à l'éther de pétrole. On réunit les extraits et on les lave avec précaution avec des portions de 25 cm³ d'eau distillée jusqu'à ce que la dernière eau de lavage ne donne plus de coloration avec la phénolphthaléine. On extrait la xanthophylle de la solution dans l'éther de pétrole avec des portions de 25 cm³ d'alcool méthylique à 85% jusqu'à ce que l'alcool soit incolore. Pour la première extraction avec l'alcool méthylique à 85% on verse l'alcool avec précaution, le long des parois de l'entonnoir à décantation, afin de ne pas déplacer la petite quantité d'eau qui s'est séparée au fond de cet entonnoir. On sépare environ 5 cm³ d'alcool et d'eau et on agite lentement le reste de l'alcool et de l'éther de pétrole. Les autres extractions avec des portions de 25 cm³ d'alcool méthylique à 85% peuvent être effectuées en agitant plus vigoureusement car il n'y a plus à craindre la formation d'émulsions. Finalement, on termine par une ou deux extractions avec chaque fois 25 cm³ d'alcool méthylique à 90%. On filtre la solution de carotène dans l'éther de pétrole au travers d'une couche de sulfate de sodium anhydre qui est placée sur un tampon de coton au fond d'un entonnoir; on recueille le filtrat dans un flacon jaugé de 50 cm³ et complète au trait marqué au moyen d'éther de pétrole. On compare la coloration de la solution ainsi préparée à celle d'une solution colorée standard en suivant la technique décrite par Gilbert, ou encore on détermine le carotène par spectrophotométrie.

On peut utiliser de plus petites quantités d'alcool pour l'extraction de carotène contenu dans le fourrage à condition d'opérer sur des échantillons plus réduits. Par exemple on traite au reflux un échantillon de 1 à 2 grammes avec 50 cm³ d'alcool, on filtre et on lave le résidu avec de petites quantités d'alcool chaud en utilisant un creuset de verre à fond filtrant et en recueillant le filtrat directement dans un flacon jaugé de 100 cm³ contenant 5 cm³ de potasse alcoolique à 20%. On procède ensuite comme il a été dit ci-dessus.

Précision de la méthode.

Dans le tableau ci-dessous, nous avons indiqué les résultats d'analyse de tourteaux d'alfalfa (sorte de luzerne) déshydratés, les analyses ayant été faites soit par la méthode de Guilbert, soit par la nouvelle méthode que nous venons de décrire; on voit que cette dernière donne des résultats plus élevés :

N° de l'échantillon	Méthode de Guilbert mg. par 100 gr.	Méthode modifiée mg. par 100 gr.
1	7,6	8,3
2	7,8	8,6
3	16	16,5
4	6,7	8,1
5	7,1	8,5

La différence entre ces résultats est due probablement à ce que dans le procédé Guilbert il y a perte de carotène lors de l'évaporation de l'éther éthylique. La nouvelle méthode donne, dans le cas d'échantillons d'alfalfa contenant 10 à 20 milligrammes de carotène par 100 grammes de produit, des résultats que l'on peut reproduire à 0 mgr. 1 près lorsque le carotène est déterminé par spectrophotométrie suivant le mode opératoire de Petersen et Hughes.

BOLIN et KHALAPUR ont également étudié le point de savoir si l'extraction du carotène par l'alcool éthylique est complète. A cet effet, le résidu provenant de l'extraction alcoolique a été analysé au point de vue de sa teneur en carotène par les méthodes de Guilbert et de Peterson et Hughes. Il n'a pas été trouvé de carotène dans ce résidu.

L'emploi d'alcool à 95% permet une filtration rapide, facilite le lavage et autorise l'emploi de quantités bien définies de réactifs. Pour éviter la formation d'émulsion et assurer une extraction quantitative du carotène de la solution alcaline dans l'alcool par l'éther de pétrole, il est important que la concentration de l'alcool soit comprise entre 70 et 75%. A cette concentration, la séparation de l'éther de pétrole de l'eau et de la phase alcoolique s'effectue facilement.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] V. E. MUNSEY. *Journal Assoc. Official Agr. Chem.*, t. XX, 1937, p. 459.
 [2] H. R. GUILBERT. *Ind. Eng. Chem. Anal.*, 5^e édition, t. VI, 1934, p. 452.
 [3] W. G. PETERSON, J. S. HUGHES et H. F. FREENIAU. *Ind. Eng. Chem. Anal., Edit.*, t. IX, 1937, p. 71.
 [4] D. W. BOLIN et A. M. KHALAPUR. *Ind. Eng. Chem. Anal., Edit.*, t. X, 1938, p. 417.

BIBLIOGRAPHIE ANALYTIQUE

1^o LES LIVRES

BURUIANA (L.) et BADILITA (A.). — **Studiu asupra fosfatazelor din lapte** (Etudes sur la phosphatase dans le lait). 1 vol., carton., 72 p., 1 dépliant, nombreux graphiques et tableaux. Tipografia Cooperativa « Litera Crestina », Str. Uranus, 79, Bucarest (Roumanie), 1938.

Conclusions.

1^o La phosphatase est un ferment qui se trouve dans le lait des animaux en quantités variables.

Le lait de vache et de brebis contient une phosphatase dont le maximum d'activité a lieu à $pH = 9,32$.

Le lait de bufflesse, chienne, chatte et lapine contient une phosphatase dont le maximum d'activité a lieu à $pH = 8,92$.

Dans le lait de femme, truie et chèvre, on trouve deux phosphatases : une qui agit à $pH 8,92$ et l'autre à $pH 4,9-5$.

Le lait de jument et d'ânesse ne contient aucune phosphatase.

2^o La quantité de phosphatase varie pendant la période de lactation.

La teneur en phosphatase, maximum dans le colostrum, diminue ensuite pour augmenter vers la fin de la lactation.

Elle varie de la même manière que les albumines et les globulines du lait.

3^o L'activité de la phosphatase est beaucoup influencée par la concentration du substratum. L'hydrolyse du glycérophosphate diminue lorsque sa concentration augmente.

4^o Nous pensons que la meilleure définition pour l'unité de phosphatase serait la suivante : le nombre de milligrammes d'acide phosphorique mis en liberté à l'optimum de réaction (pH), de concentration en substratum et à la température de 35°, par la phosphatase contenue dans 1.000 grammes ou 1.000 cm² de tissu ou liquide biologique.

Nous proposons pour cette unité, le symbole :

$$\pm \text{Mg P}_M^t = A \text{ unités de phosphatase}$$

où, Mg indique le magnésium comme activateur nécessaire ou indifférent, t, le temps et

M, la concentration moléculaire.

Pour des raisons d'ordre pratique la concentration du substratum ne doit pas descendre au-dessous de 0,007 M.