

qu'ils peuvent rendre aux techniciens. Aussi avons-nous longuement mis à l'épreuve nos milieux du type C avant de les faire connaître. En maintes circonstances, ils nous ont donné des résultats équivalents à ceux que nous obtenions avec le milieu au lait digéré par la trypsine. Tel fut le cas, notamment, dans nos nombreux contrôles bactériologiques des laits crus ou pasteurisés que nous avons eu à effectuer tant à Paris qu'à Caen. Tel fut le cas également dans nos récentes études sur la beurrerie et sur la fromagerie.

A l'heure actuelle, c'est le milieu C au lait digéré par la papaïne qui est le plus couramment employé dans nos laboratoires.

Conclusion

Les milieux à base de lait digéré par la papaïne peuvent, croyons-nous, rendre de très appréciables services dans les laboratoires de bactériologie laitière et même de bactériologie générale.

Leurs qualités nutritives les placent tout à côté de notre milieu à base de lait digéré par la trypsine, mais ils sont d'une préparation infiniment plus simple que ces derniers, surtout si on s'arrête à nos formules du type C.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] GUITTONNEAU (G.), SAJOUS (P.) et DE PEET (R.). *Recherche d'un milieu de culture approprié à la bactériologie fromagère.* (*Le Lait*, 1930, p. 614-750.)
- [2] GUITTONNEAU (G.), MOCQUOT (G.) et EYRARD (A.). *Recherches sur la pasteurisation des laits de consommation.* 1^o Mémoire : *Choix d'un milieu de culture pour la numération des germes microbiens.* (*Le Lait*, 1938, p. 225 à 233.)

REMARQUES SUR LE DOSAGE DES PHOSPHATIDES DU LAIT

par

L. BURUIANA et A. FURTUNESCO

Laboratoire de Chimie biologique, Faculté de Médecine vétérinaire de Bucarest.

Parmi les composants du lait, les phosphatides ont acquis dernièrement une importance primordiale. Cela s'explique par leur haute valeur alimentaire et par leur rôle catalytique dans les phénomènes d'oxydo-réduction physiologique et pendant les diverses manipulations du lait en vue de sa conservation ou de son industrialisation.

Il est intéressant de nous attarder un peu sur l'importance métabolique des phosphatides. Il apparaît ainsi que la résorption

des graisses dans l'intestin se fait par l'intermédiaire des composés phosphorés de nature lipoïdique. La phosphorylation est un stade indispensable à la transformation des graisses alimentaires, c'est-à-dire à leur saponification et à leur resynthèse en graisses neutres intracellulaires.

Leur importance dans la synthèse des graisses résulte aussi de l'observation faite que, pendant la formation de la matière grasse du lait dans la glande mammaire, le contenu du sang en phosphatides décroît.

JOST a remarqué que, dans le foie isolé, les graisses sont plus complètement oxydées quand le sang qui l'irrigue contient une quantité plus grande de phosphatides. Les acides gras non saturés sont plus facilement oxydés sous forme de phosphatides que de glycérides.

A part le métabolisme des graisses, on connaît l'importance des composés phosphorés complexes dans les phénomènes d'oxydo-réduction (transformation des glucides, action des coferments, métabolisme énergétique, etc.).

Pour le lait, les phosphatides ont une importance toute spéciale comme élément catalytique. De nombreuses recherches ont établi une liaison étroite entre certaines qualités organoleptiques, capacité de conservation et contenu en phosphatides.

Pendant les recherches entreprises par l'un de nous sur le contenu en vitamines du lait et leur conservation pendant des traitements physiques spéciaux, nous avons été conduits à déterminer aussi le contenu du lait en phosphatides. A cette occasion, nous avons constaté que le contenu normal indiqué par divers auteurs était très variable.

Le grand nombre de méthodes proposées pour le dosage et leurs variantes indique que la discordance des résultats a frappé aussi d'autres chercheurs.

Dans un intéressant travail critique, J. E. LOBSTEIN et M. FLATTER (1), en résumant les résultats obtenus par divers auteurs, attribuent les discordances, d'une part à la déféctuosité de la méthode d'extraction et d'autre part à l'inexactitude des méthodes de dosage du phosphore.

Nous sommes d'accord que l'extraction des phosphatides du lait est un facteur de tout premier ordre pour le dosage précis ; quant au dosage du phosphore, le problème est plus simple, car aujourd'hui on connaît des méthodes très exactes pour son dosage.

Pour démontrer l'importance de l'extraction, LOBSTEIN et FLATTER rapportent quelques résultats obtenus par les diverses méthodes connues, modifiées quant au procédé d'extraction. Ces résultats, on doit le reconnaître, concordent assez bien et indiquent,

comme contenu en phosphatides du lait, le chiffre approximatif de 0 gr. 300 ‰.

Malheureusement, les modifications apportées par LOBSTEIN et FLATTER aux diverses méthodes ne peuvent être considérées comme un progrès parce qu'elles n'améliorent pas du tout l'extraction des phosphatides. Par exemple, LOBSTEIN et FLATTER modifient l'extraction éthéro-alcoolique, proposée par BLOOR et utilisée par HESS et HELMAN, par l'extraction à l'éther seul.

On sait que l'éther seul ne dissout qu'une partie des phosphatides. De même, l'extraction alcoolique seule ne peut extraire qu'une partie des phosphatides et cette partie n'est ni égale ni identique à celle extraite par l'éther seul.

En plus, la comparaison des diverses méthodes modifiées est faite avec la méthode d'Adam qui est longue et inexacte. En vérité, la précipitation acéto-alcoolique chaude des protides n'entraîne pas quantitativement les phosphatides — fait reconnu même par LOBSTEIN et FLATTER. Nous sommes donc obligés de considérer la concordance des résultats comme pur hasard.

Dans un travail sur la même question B. REWALD [2] utilise, pour l'extraction des phosphatides du lait en poudre, l'alcool éthylique ou méthylique, froid et chaud et, après, pour compléter l'extraction, le mélange « alcool 80% et benzine 20% ». Après l'évaporation des solvants, il purifie le résidu par précipitation répétée avec l'acétone. B. REWALD trouve que la poudre de lait contient 0 gr. 24% de phosphatides, ce qui revient, en considérant que le lait contient normalement, approximativement 87% d'eau, à un contenu de celui-ci de 0 gr. 0314% de phosphatides. Ce chiffre est très approchant de celui établi par LOBSTEIN et FLATTER, mais cette quantité ne peut représenter la totalité des phosphatides du lait parce qu'une quantité appréciable est perdue pendant les purifications répétées de l'extrait. Comme l'indique B. REWALD, cette quantité est représentée seulement par de la lécithine et de la kéfaline presque pures. On sait, depuis T. B. OSBORNE et A. I. WAKEMAN [3], qu'il existe aussi dans le lait d'autres lécithines solubles en éther, mais pas encore identifiées.

Tenant compte des diverses observations dont une partie a été exposée plus haut, notre attention a été spécialement attirée vers la méthode proposée par W. R. BLOOR [4] pour l'extraction et le dosage des phosphatides des liquides biologiques. Cette méthode réunit aujourd'hui tous les suffrages quant à l'exactitude et à la simplicité du dosage.

Elle a été employée par A. F. HESS et F. D. HELMAN [5] pour le dosage des phosphatides du lait. LOBSTEIN et FLATTER (*loc. cit.*) ont contesté les résultats obtenus. Ils expliquent les chiffres plus

grands obtenus par HESS et HELMAN, non par une extraction plus complète, mais par l'extraction d'une substance protéique phosphorée (la caséine ?) bien qu'ils reconnaissent n'avoir pu mettre en évidence, par la réaction de Millon, aucune trace de protéine dans l'extrait éthéro-alcoolique et par l'extraction d'une partie du phosphore minéral existant dans le lait.

LOBSTEIN et FLATTER apportent comme argument, en faveur de l'hypothèse de l'extraction d'une partie du phosphore minéral, la constatation de HESS et HELMAN que le pourcentage des phosphatides est plus grand si l'extraction se fait sur le lait liquide et plus faible si le lait a été préalablement desséché.

Nous avons employé la technique de Bloor pour le dosage des phosphatides du lait et nous rapportons les détails de la technique du travail, les résultats obtenus et les observations faites à cette occasion.

1. LE DOSAGE DES PHOSPHATIDES DU LAIT (LAIT ENTIER, NON DESSÉCHÉ). — *Technique de dosage* : Dans un matras de 100-200 cm³ de capacité, on introduit 25 cm³ d'un mélange : éther éthylique redistillé pur (il n'est pas indispensable qu'il soit rigoureusement anhydre), 1 partie ; alcool éthylique à 96°, 3 parties. Avec une pipette assez longue on introduit, goutte à goutte, 1 cm³ de lait bien homogénéisé. On adapte un réfrigérant ascendant et on maintient le tout 2-3 minutes à l'ébullition au bain-marie. On refroidit, puis on filtre dans un ballon Kjeldahl de 100 cm³ de capacité. On lave le tout avec approximativement 25 cm³ du même mélange éthéro-alcoolique. On distille le solvant sans arriver à siccité complète. On ajoute dans le ballon 2 cm³ de mélange sulfo-nitrique (61 parties d'acide sulfurique concentré pur + 1 partie d'acide nitrique concentré pur) et on chauffe doucement sur une petite flamme jusqu'à décoloration. Au besoin, on ajoute encore quelques gouttes d'acide azotique. Après refroidissement, on introduit le tout dans un ballon jaugé de 20 cm³ et on neutralise en présence de phénolphtaléine avec de la soude concentrée. Après refroidissement, on ajoute dans l'ordre suivant : 1 cm³ de réactif sulfomolybdique, 1 cm³ de solution d'hydroquinone à 1 %, 1 cm³ de solution à 20 % de bisulfite de sodium, pour le dosage colorimétrique selon BELL, DOISY et BRIGGS. On attend une demi-heure et puis on détermine la quantité de phosphore à l'aide du photocolorimètre. La détermination peut se faire aussi à l'aide d'un colorimètre ordinaire. L'emploi du colorimètre à cellule photoélectrique est préférable pour la précision et la facilité de la lecture et parce que l'on est dispensé de la préparation de solutions-étalons.

Pour voir si, par ce procédé d'extraction, on ne dissoud pas

une partie des phosphates minéraux, nous avons fait une série de déterminations dans lesquelles nous avons dosé le phosphore dans le liquide d'extraction sans destruction sulfo-nitrique. Les résultats ont toujours été négatifs. Nous pouvons donc affirmer avec fermeté que, par la méthode d'extraction de Bloor, on n'extrait pas de phosphore minéral. Nous n'avons pas pu davantage mettre en évidence aucune substance protéique dans le liquide d'extraction.

A l'échelle macrochimique, en utilisant une plus grande quantité de lait, mais en conservant les proportions du liquide d'extraction et des réactifs, nous avons obtenu des résultats parfaitement concordants avec la technique indiquée plus haut.

2. LE DOSAGE DES PHOSPHATIDES DU LAIT (LAIT PRÉALABLEMENT DESSÉCHÉ). — HESS et HELMAN (*loc. cit.*) ont affirmé que si le lait est préalablement desséché l'extraction ne se fait pas complètement. Nous avons cherché à vérifier cette affirmation.

Dans ce but, nous avons desséché le lait comme suit : dans une capsule de porcelaine, nous avons mis 30-35 grammes de sable fin bien lavé à l'acide chlorhydrique et nitrique, et sec. On ajoute ensuite 5 cm³ de lait et on mélange bien avec une baguette de verre. On met la capsule au thermostat à 105° C. et on la maintient 8-10 heures en mélangeant de temps en temps pour bien dessécher. Après le temps, on broie bien les grumeaux de sable et on extrait à l'éther (on lave aussi la capsule). Après ce temps, on verse tout l'éther dans un ballon Kjeldahl de 300 cm³ et on distille l'éther. On continue l'extraction dans le Soxhlet avec de l'alcool éthylique à 96° également pendant 5 heures, en ayant soin de laver aussi la capsule avec l'alcool d'extraction mis dans le Soxhlet.

Après épuisement, on ajoute l'alcool dans le même ballon Kjeldahl que l'éther, ou dans un autre Keljdahl si l'on veut doser séparément les phosphatides solubles dans l'éther et ceux solubles dans l'alcool.

Après évaporation, on ajoute 5 cm³ du mélange sulfo-nitrique et on minéralise le tout pour déterminer le phosphore selon la technique, décrite plus haut, de BELL, DOISY et BRIGGS.

Les résultats obtenus avec ce procédé sont indiqués dans le tableau suivant où sont donnés aussi pour comparaison les résultats obtenus avec le même lait en utilisant le procédé 1.

D'après le tableau ci-après on voit que, contrairement aux résultats obtenus par HESS et HELMAN, nous avons constaté qu'il n'y a aucune différence entre l'extraction des phosphatides du lait, que celui-ci soit en liquide ou desséché, avec la remarque qu'il faut toutefois que l'extraction du lait desséché soit assez prolongée.

Ce point essentiel doit être strictement respecté pour que les résultats soient concordants.

TABLEAU

	Premier procédé d'extraction		2 ^e procédé d'extraction	
	pH lipoidique Milligram. %	Lécithine Milligram. %	pH lipoidique Milligram %	Lécithine Milligram. %
Lait de vache	75	1.875	74,8	1.870
	70	1.750	70	1.750
	62,5	1.562	62	1.550
	65	1.625	65,5	1.637
	57,5	1.712	66,5	1.662
	64	1.600	65	1.625
	66	1.650	65	1.625
	72	1.800	73	1.825
	61	1.525	60	1.500
	78	1.950	76	1.900
Lait de bufflesse	88	2.200	84	2.120
	91	2.275	90	2.250
	100	2.500	95	2.375
	95	2.375	93	2.325
	90	2.250	91	2.275
Lait de bufflesse dé- graissé	70	1.750	70	1.750

On doit remarquer aussi qu'il est indifférent que l'extraction se fasse séparément, c'est-à-dire premièrement à l'éther seul, puis à l'alcool, ou avec le mélange proposé par BLOOR. D'après les recherches faites jusqu'à aujourd'hui, l'éther et l'alcool sont les solvants de choix pour les lipides, de même que l'extraction éthéro-alcoolique séparée ou combinée assure l'extraction la plus complète des phosphatides du lait.

Pour préciser quelle est la part de phosphatides solubles dans l'éther et l'alcool, nous avons dosé séparément l'extrait à l'alcool. Les résultats sont indiqués dans le tableau ci-après.

D'après nos recherches, la méthode de Bloor pour le dosage des phosphatides du lait est la plus indiquée. Elle est exacte et d'exécution simple et rapide. Les résultats obtenus sont toujours plus grands que par les autres méthodes proposées jusqu'aujourd'hui parce que l'extraction est plus complète.

L'efficacité de l'extraction éthéro-alcoolique est plus grande que l'extraction avec l'éther seul ou l'alcool seul.

TABLEAU

	Extrait par l'éther Milligrammes %	Extrait par l'alcool Milligrammes %	Extrait éthéro- alcool (d'après Bloor) Milligrammes %
Lait de bufflesse	28	56	84
	31	59	84
	25	54	79
	35	63	98
	35	65	100

Les critiques apportées par LOBSTEIN et FLATTER d'une part, et HESS et HELMAN d'autre part, ne sont pas fondées.

Le contenu du lait de vache en phosphatides est très constant (moyenne 1 gr. 650 par litre calculé en distéaryl-lécithine). Le lait de bufflesse est plus riche (moyenne 2 gr. 300 par litre).

L'éther seul extrait une plus petite quantité de phosphatides que l'alcool.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] J. E. LOBSTEIN et M. FLATTER. *Le Lait*, 1935, 149, 946.
 [2] B. REWALD. *Le Lait*, 1937, 163, 225.
 [3] T. B. OSBORNE et A. I. WAKEMAN. *Journal of biol. Chem.*, 1915, XXI, 539.
 [4] W. R. BLOOR. *Journal of biol. Chem.*, 1917, 29, 437 et *Ibid.*, 1918, 36, 33.
 [5] A. F. HESS et F. D. HELMAN. *Journal of biol. Chem.*, 1925, 64, 781.

• LE CONTROLE BACTÉRIOLOGIQUE
DE L' « ICE-CREAM »

par

M. G. EL-GHERIANY et SAFWET KIANI

Docteur ès sciences naturelles Docteur en Médecine

Laboratoire central d'Hygiène publique, Le Caire

(Directeur : Prof. Dr ANIS ONSY BEY).

La consommation de l'ice-cream est beaucoup plus grande dans les pays chauds, comme l'Egypte, que dans les pays tempérés ou froids. Nous consommons au Caire de l'ice-cream pendant plus de six mois de l'année ; or, ces glaces peuvent être contaminées et constituer une source de fièvres intestinales [1] — c'est pourquoi le contrôle bactériologique de ces glaces est indispensable chez nous plus qu'ailleurs. Jusqu'à ces dernières années, les glaces à consommer étaient fabriquées par de petites maisons qui pouvaient facilement faire bouillir leur lait et prendre les précautions néces-