

LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :

M. BEAU. — La caséine et la présure	113
L. BURUANA. — Une nouvelle diastase dans le lait : la fibrinogénase	138
G. GUITTONNEAU et M ^{lle} M. BEJAMBES. — Sur la rupture de l'équilibre phosphatique dans les laits microbiens fortement chauffés. Cas des laits stérilisés	140
J. BONNET. — Dosage du saccharose et du lactose dans le lait condensé sucré	150

Bibliographie analytique :

1 ^o Les livres	152
2 ^o Journaux, Revues, Sociétés savantes	157
3 ^o Brevets	187

Bulletin bibliographique :

Brevets	194
-------------------	-----

Documents et informations :

M. BEAU. — La situation laitière	197
Décret du 26 juin 1940 relatif à un nouvel abaissement de 5% de la teneur en	

matière grasse des fromages	201
Décret du 18 septembre 1940 relatif à la vente des fromages	202
Loi du 9 novembre 1940 relative aux récipients d'un quart de litre pour le mesurage du lait livré aux consommateurs	203
Arrêté du 19 décembre 1940. Vente des fromages	203
Décret du 24 avril 1941 portant homologation du règlement d'application de la loi du 27 juillet 1940 relative à l'organisation de la production laitière	294
Production et commerce de la caséine en 1939	210
Rapport sur les précautions à prendre pour la récolte et la conservation du lait	219
Mesures concernant l'emploi des machines à traire en Allemagne	220
Le bétail aux Etats-Unis	220
La production de lait aux Etats-Unis	222
Production, commerce et prix du beurre en 1939	223
L'agriculture suisse en 1938.	224

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

LA CASÉINE ET LA PRÉSURE

par

M. BEAU

Ingénieur Agronome

La présente étude est le complément de celles que nous avons précédemment publiées [14], notamment dans ce journal, sur la théorie de la polymérisation. Cette dernière nous ayant paru obscure sur certains points, incomplète sur d'autres, nous avons

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

cru bon de l'approfondir en vue d'expliquer, d'une façon satisfaisante, les uns et les autres. Nous l'exposons dans ce qui suit telle que nous la concevons actuellement.

A. LES FAITS ÉTABLIS (14)

1. La Présure. — La présure, ou chymosine, est l'enzyme sécrétée par les estomacs de jeunes animaux, et coagulant le lait frais sans addition d'acide, c'est-à-dire transformant la solution-suspension colloïdale de caséine du lait en un gel volumineux solide, également colloïdal.

Cette enzyme s'accompagne toujours d'un pouvoir protéolytique plus ou moins prononcé, mais jamais nul, soit que la chymosine agisse elle-même comme une pepsine, soit que les deux enzymes soient sécrétées simultanément sans qu'on puisse les séparer entièrement l'une de l'autre. Deux différences assez nettes ont cependant été constatées entre les deux pouvoirs coagulant et peptonisant, ou, si l'on veut, entre les deux enzymes :

a) La pepsine agit seulement en milieu très acide, son maximum d'activité ayant lieu à $pH = 2$, et sa destruction au-dessus de $pH = 7$, c'est-à-dire pour une très faible alcalinité, tandis que la chymosine a son optimum d'activité à $pH = 5$ et fonctionne encore au-dessus de $pH = 7$.

b) Les deux enzymes se concentrent inégalement en présence de divers réactifs, notamment quand on précipite des infusions d'estomacs de veaux par le sel marin en excès [2], auquel cas on peut obtenir des solutions de chymosine n'ayant vis-à-vis de la caséine qu'un pouvoir protéolytique faible quoique pas nul.

De même en utilisant l'hydrate d'alumine fraîchement précipité comme matière adsorbante, on peut aussi [7] concentrer très fortement la chymosine par rapport à la pepsine et obtenir ainsi, par adsorptions et éluations successives au moyen de phosphate de sodium, des solutions de chymosine ne renfermant plus que des quantités infimes de matière organique, ne donnant plus aucune réaction des protéines, mais seulement d'une manière très faible celle des peptones et des acides aminés, et coagulant énergiquement le lait, sans que le pouvoir protéolytique soit disparu, au moins vis-à-vis de la caséine, qui est évidemment ici le réactif le plus sensible à cet égard, le seul intéressant aussi au point de vue qui nous occupe. La chymosine est, en tout cas, comme la pepsine, une enzyme protéolytique.

2. La Caséine. — La caséine est le corps qui précipite quand on additionne à froid le lait (écrémé) d'une solution diluée d'un acide quelconque minéral ou organique. C'est une protéine, ou un mélange de protéines [9 et 13], que l'on n'est pas arrivé jusqu'alors à séparer

d'une façon nette, sans actions chimiques plus ou moins brutales et par suite susceptibles de modifier la caséine en tout ou partie.

a) *Dans le lait*, la caséine est à l'état de solution-suspension colloïdale, sous forme de micelles plus ou moins grosses, ayant de 40 à 120 millimicrons de diamètre, visibles à l'ultramicroscope et douées du mouvement brownien. Ces micelles se comportent comme celles d'un colloïde quelconque vis-à-vis des divers moyens physiques employés pour les étudier :

Elles subissent l'action de la pesanteur [3], c'est-à-dire que, laissées au repos dans le lait pendant des mois et des années, elles se concentrent au fond du vase. La force centrifuge donne le même résultat [5], l'élimination des micelles par centrifugation décroissant au fur et à mesure que celles-ci sont plus petites.

Par filtration sur porcelaine poreuse [3], on peut séparer ces micelles de caséine du reste des éléments du lait. Mais [5] elles retiennent sur le filtre 35% du phosphore minéral du lait et jusqu'à 67% du calcium, ce qui conduit à penser que la caséine est, dans le lait, plus ou moins liée à ces deux corps, liés eux-mêmes entre eux sous forme de phosphate calcique, en majeure partie même sous forme de phosphate tricalcique.

Or, ce dernier est normalement insoluble ; comme on ne le voit pas au microscope, il doit donc être dans le lait à l'état colloïdal, de même que la caséine. Ceci est confirmé par ce que nous savons de la production du lait dans la mamelle ; cette production est, en effet, le fait des cellules tapissant intérieurement les acini et agissant :

d'une part comme instrument de filtration des matières solubles contenues dans le sang ; c'est le cas notamment des sels solubles (chlorures) et de la lactalbumine qui paraît très analogue, sinon identique, à l'hématalbumine, ces deux corps étant en solution colloïdale très fine (micelles de moins de 5 millimicrons invisibles à l'ultramicroscope) ;

d'autre part comme instrument de sécrétion, notamment pour la caséine et le phosphate de chaux ; cette sécrétion a lieu par liquéfaction de la partie extérieure des cellules des acini, mettant en liberté le protoplasme plus ou moins modifié desdites cellules ; comme ce dernier est toujours à l'état colloïdal, il en est nécessairement de même de la caséine et du phosphate de calcium, qui sont ainsi produits ensemble ou au moins d'une façon parallèle.

Le phosphate de calcium, indispensable à la formation du squelette du jeune animal, est sécrété sous cette forme colloïdale, qui est aussi la forme la plus digestible, en même temps que la caséine qui est en proportion dominante et l'entraîne avec elle au moins d'une manière physique. Toutefois cette dernière, d'après

les chiffres ci-dessus, paraît, à cet égard, agir plus fortement sur le calcium que sur le phosphore, ce qui semble montrer qu'il ne s'agit pas d'une véritable liaison chimique entre la caséine et le phosphate de calcium, mais plutôt d'une liaison physique entre la caséine, la chaux et l'acide phosphorique.

Cette liaison est également démontrée par le fait que, si l'on essaie d'éliminer la caséine du lait par un moyen physique, par exemple [1] en additionnant ce dernier d'un excès de sel neutre en poudre (NaCl), la caséine se sépare, mais entraîne avec elle des quantités de chaux et d'acide phosphorique telles que le rapport Ca/P soit égal environ à 1,9, c'est-à-dire au rapport que ces deux corps présentent dans le phosphate tricalcique (Ca/P = 1,935).

Ce n'est plus que par l'action des acides que l'on peut débarrasser la caséine de ceux-ci ; encore faut-il pour cela opérer une série de précipitations par un acide et de dissolutions par une base, ce qui semble plutôt conduire à penser à une véritable combinaison chimique des trois corps sous forme d'un sel composé, d'un phosphocasinatate de calcium.

b) Cette action des acides, dissolvant la chaux et l'acide phosphorique, donne la *caséine pure*, qui est une protéine, constituée par une série d'acides aminés divers [10], tels que l'on peut représenter la molécule de caséine par la formule schématique suivante :



dans laquelle S et P sont des atomes de soufre et de phosphore organiques (ce dernier étant à l'état de phosphoryles comportant 9 oxyhydroyles OH), **R** un radical inconnu, mais de grosse masse, COOH des groupes carboxyles nettement acides au nombre de 114, NH² des groupes aminés au nombre de 83, si bien que la réaction globale de la caséine reste acide par suite de la prédominance des groupes carboxyles (pH = 4, 6-4, 7).

De la décomposition en acides aminés on conclut que le poids moléculaire de la caséine est compris entre 12.000 et 13.000, mais d'autres méthodes, notamment celles dites de sédimentation [12], ont donné des chiffres bien plus élevés, variant de 75.000 à 375.000, sans que de ces différences énormes on ait pu jusqu'alors tirer de conclusion certaine, la méthode pouvant aussi bien donner le poids des micelles de différents grosseurs de la caséine que le poids de la molécule elle-même. La méthode de sédimentation centrifuge, dans le cas de molécules cristalloïdes polyatomiques, dont l'agrégation est d'ordre chimique, peut, en effet, bien donner le poids moléculaire correspondant ; mais, lorsqu'il s'agit de micelles colloï-

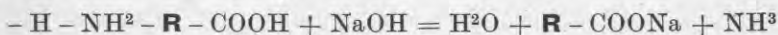
dales polymoléculaires, dont l'agrégation est d'ordre physico-chimique et qui sont de grosseurs différentes, la méthode doit plutôt donner la grosseur de celles-ci que celle des molécules.

c) Cette caséine pure peut tout d'abord se combiner avec les bases pour donner des *caséinates* alcalins (notamment avec NH^3 et NaOH) ou alcalino-terreux (en particulier avec CaO) ; tous s'obtiennent par combinaison directe de la caséine et de la base, par exemple pour la soude suivant la formule :



avec élimination d'une molécule d'eau par carboxyle neutralisé.

Comme il y a une quantité considérable de groupes COOH dans la molécule de caséine et que, d'ailleurs, chacun d'eux peut n'être que partiellement saturé, il y a aussi une infinité de caséinates très voisins les uns des autres, différant par leur teneur en base et qu'on peut désigner au moyen de cette teneur en indiquant en même temps leur $p\text{H}$, qui varie de 4,6 pour la caséine pure à environ 10 pour les caséinates les plus alcalins renfermant 18×10^{-4} équivalents de base, dose au voisinage de laquelle l'alcali en excès commence à attaquer la molécule de caséine elle-même et la décompose en donnant de l'ammoniaque suivant la formule :



Simultanément, dans ce cas, les trois phosphoryles sont transformés en phosphate de soude et la caséine est déphosphorylée [18].

Les caséinates alcalins s'obtiennent en ajoutant simplement l'alcali à la caséine délayée dans l'eau ; ils sont entièrement solubles et donnent des solutions transparentes, filtrables, stables, ne se troublant pas par la chaleur, ne formant pas « peau » à chaud, enfin ne précipitant par addition ni de présure, ni d'un produit minéral quelconque, sauf naturellement les acides qui en reprécipitent la caséine. Ces caséinates sont les colles courantes de l'industrie. Dans ces corps, la base paraît bien être liée chimiquement à la caséine.

Les caséinates alcalino-terreux s'obtiennent plus difficilement, sans doute à cause de la valence plus faible des bases alcalino-terreuses ; pour préparer par exemple les caséinates de calcium, il faut broyer intimement dans un mortier la caséine et la chaux éteinte en poudre impalpable en présence d'aussi peu d'eau que possible, jusqu'à disparition complète des grains de chaux et formation d'une solution translucide homogène. La réaction totale est lente et demande plusieurs heures (de 24 à 48 heures à la glacière) jusqu'à ce que le $p\text{H}$ reste constant ; c'est ce qu'on appelle la « maturation » des caséinates.

Ce mode de préparation montre que la liaison est à la fois d'ordre physique et chimique, puisque l'on doit faire intervenir des actions mécaniques qui ont pour effet de disperser les produits dans la solution sous une forme très fine, colloïdale. Par suite, alors que, pour les caséinates alcalins, il paraît bien s'agir d'une véritable combinaison chimique, il semble que l'on soit ici plutôt en présence d'une liaison chimico-physique.

Les caséinates de calcium sont aussi solubles dans l'eau, donnent des solutions opalescentes ne traversant pas les filtres en porcelaine et assez peu stables, se troublant par la chaleur et, à 65°, formant « peau » comme le lait. Ces caséinates précipitent ou coagulent sans présure dans certaines conditions : ainsi un caséinate à 400 de CaO pour 30 gr. de caséine pure ($pH = 6,0$), additionné à 40° de 11 % de $CaCl^2$, donne un coagulum analogue à celui du lait [11].

En tout cas, il semble que la caséine soit, dans le lait, combinée à la chaux sous forme de caséinate de calcium à environ 600 de CaO pour 30 gr. de caséine pure de $pH = 7,1$; c'est, en effet, ce pH que l'on obtient quand on élimine par dialyse du lait les sels acides solubles du sérum. *

Enfin ces caséinates donnent avec les divers acides minéraux des sortes de sels doubles, dont les plus importants sont les phosphocaséinates de calcium.

d) Les *phosphocaséinates* de calcium s'obtiennent en ajoutant de l'acide phosphorique aux caséinates de calcium ; mais, si l'on opère sans précautions, on n'obtient que la précipitation de la caséine et du phosphate tricalcique. Pour obtenir les phosphocaséinates, il faut, encore plus que pour les caséinates, opérer par un broyage intime au mortier [11] ou par une agitation violente au moyen d'un agitateur tournant à 3.000 tours [5].

On est donc ici, et plus encore que pour les caséinates, en présence d'une liaison physico-chimique ; il faut en effet empêcher, d'une part, la formation de phosphate tricalcique cristalloïdal, d'autre part, la précipitation de la caséine et obtenir la liaison colloïdale de ces deux corps par l'intermédiaire de la chaux du phosphate, ce qui conduit à penser que l'on a affaire à une sorte de complexe : caséine + chaux + acide phosphorique ou bien caséinate de calcium + phosphate de calcium.

Ces phosphocaséinates sont aussi en nombre infini et ne peuvent être désignés que par leur teneur en chaux et acide phosphorique et par leur pH . Les plus intéressants, au point de vue qui nous occupe, sont ceux analogues à celui du lait. Pour les préparer, PORCHER [11] prend, pour 30 grammes de caséine pure, 1.100 milligrammes de CaO (dont 600 pour le caséinate de calcium) et 600 milligrammes de P^2O^5 . Un pareil phosphocaséinate, y compris

les 510 milligrammes de P^2O^5 provenant des phosphoryles (1,7%), a un taux de cendres de 2.210 milligrammes pour un total de phosphocaséinate de 32 gr. 21, soit à peine 7% ($pH = 6,90$).

Ce taux est inférieur, d'une part à celui indiqué par HAMMARSTEN [1], soit 8%, d'autre part au taux normal des cendres d'une bonne caséine présure destinée à la fabrication des matières plastiques, qui est plus près de 8% que de 7%. Les quantités ci-dessus conduisent du reste PORCHER à supposer que les phosphates de calcium accompagnant le caséinate sont constitués par un mélange de phosphates mono, bi et tricalciques, ce qui est une complication nous paraissant inutile.

Par suite, sans rien changer au taux de CaO (600) du caséinate de calcium, nous préférons supposer que les phosphates d'accompagnement sont constitués uniquement par du phosphate tricalcique, ce qui nous conduit à prendre, pour 30 grammes de caséine pure, 1.300 de CaO et 600 de P^2O^5 , ce qui, avec les 510 de P^2O^5 provenant des phosphoryles, fait un total de cendres de 2.410 milligrammes sur 32 gr. 41 de complexe, soit 7,5%.

Remarquons tout de suite que, dans ce complexe, les 510 milligrammes de P^2O^5 provenant des phosphoryles correspondent exactement aux 600 de CaO du caséinate, c'est-à-dire sont susceptibles de les saturer pour donner du phosphate tricalcique. Remarquons également que le rapport global du calcium au phosphore est de 1,9, c'est-à-dire le même que celui qu'on trouve [1] dans la caséine éliminée par un excès de sel minéral.

Les solutions de phosphocaséinates de calcium de pH voisin de 7 ont l'aspect blanc laiteux et la structure colloïdale du lait écrémé. L'un comme l'autre, chauffé à 65° , subit une altération qui se traduit par une diminution du pH (virage vers l'acidité) par suite de l'insolubilisation au moins partielle du phosphate tricalcique; chauffés au-dessus de 100° , ils brunissent, jusque vers 130° , où ils coagulent spontanément en masse sans que l'on sache exactement si cette coagulation est analogue à celle obtenue avec la présure [19].

Les solutions de ces phosphocaséinates de calcium, additionnées de présure, coagulent aussi comme le lait, c'est-à-dire avec formation d'une protéose soluble dans le sérum et en donnant un caillé compact, porcelainique, rétractile, occupant tout le volume du liquide. C'est, en particulier, le cas de notre complexe à 1.300 de CaO et 600 de P^2O^5 .

3. La Coagulation. — En résumé, il y a trois moyens d'extraire la caséine du lait :

1^o La précipitation par un acide, qui donne la caséine pure exempte de cendres, insoluble dans l'eau, soluble dans les alcalis;

2° La filtration sur porcelaine poreuse ou l'élimination par salage, qui donne évidemment la caséine telle qu'elle se trouve dans le lait, le corps obtenu contenant 7 à 8% de cendres (phosphate de calcium), lequel, remis en suspension dans l'eau, coagule directement par la présure, pourvu qu'il y ait des sels de chaux solubles en présence ;

3° La coagulation par la présure, qui donne le caillé ou fromage, contenant également 7 à 8% de cendres (phosphate de calcium), insoluble dans l'eau, où l'on ne peut le remettre en suspension que par pulvérisation mécanique, difficilement soluble dans les bases alcalines, les solutions ne coagulant plus par la présure.

En tout cas, les deux dernières méthodes donnent un résultat qui, chimiquement parlant, semble être le même puisque la composition du produit est la même ; mais, physiquement parlant, il y a une grosse différence.

Dans la coagulation par la présure, on constate à l'ultramicroscope [4] que les micelles de caséine perdent leur mouvement brownien, donc augmentent de grosseur, puis s'agglutinent en masses de plus en plus fortes ; on peut même voir [6] qu'il se forme un réseau constitué par de petites masses (disques) reliées par des filaments très ténus. Puis, il apparaît [11] de petits flocons visibles à l'œil nu, qui se soudent pour donner finalement un solide élastique occupant la totalité du volume.

Dans l'élimination par les sels, le produit est au contraire un solide pulvérulent précipité, donc n'occupant qu'une faible fraction du volume liquide.

Enfin, dans le lait lui-même, le corps est sous forme d'une solution suspension colloïdale liquide et homogène, qu'il conserve à la filtration.

On voit bien que cette dernière forme de suspension colloïdale puisse se transformer en la précédente (précipité pulvérulent) par déshydratation du colloïde, sans que pour cela le produit change de composition. On voit moins bien ce qui peut avoir lieu quand la caséine passe de l'état de suspension colloïdale qu'elle a dans le lait à l'état de gel colloïdal qu'elle présente après coagulation par la présure.

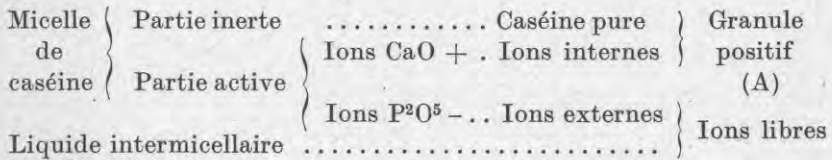
C'est ce qu'il faut maintenant expliquer (1). Dans la pratique, il n'a été donné que deux explications du comportement de la caséine dans la coagulation par la présure, l'une purement physique, l'autre purement chimique :

a) *Théorie physique.* Pour les uns [3, 16 et 20], il n'y a dans le lait qu'une seule protéine, la caséine, partie en suspension, partie à

(1) Dans tout ce qui suit nous conservons le nom de paracaséine au produit de l'action de la présure sur la caséine, quelle que soit cette action.

l'état « muqueux », partie en solution (albumine), les proportions de ces trois états variant suivant les circonstances présentes. La coagulation n'est qu'une variation d'« agrégation moléculaire » de la caséine par suite de la fragilité de l'état muqueux et ceci s'applique en particulier à l'action de la présure sur le lait.

C'est toutefois là une conclusion un peu vague et *à priori*, qui n'a pas été entièrement sanctionnée dans la suite. Cependant, pour mettre sous une forme moderne, colloïdale, cette théorie « muqueuse » des faits, on peut s'exprimer de la façon suivante : la caséine et le phosphate de calcium sont certainement dans le lait à l'état colloïdal, et comme le second est toujours entraîné par le premier, il faut en conclure que la chaux et l'acide phosphorique constituent la « partie active » de la micelle de caséine, qui peut, par suite, être représentée par le schéma suivant :



La précipitation par les acides fait passer par dissolution dans le liquide intermicellaire les ions de la partie active et donne la caséine pure.

La filtration sur porcelaine poreuse retient avec la caséine une grande partie de la partie active, surtout la chaux et en moindre proportion l'acide phosphorique.

L'élimination par les sels donne en bloc la micelle complète, y compris la totalité de sa partie active, entraînée par la partie inerte.

Quant à la coagulation par la présure, il reste à en donner dans cette hypothèse une explication plausible.

b) *Théorie chimique.* Pour les autres [1 et 11] la présure produit un dédoublement, un « clivage » de la molécule de caséine en une molécule de paracaséine insoluble vis-à-vis du phosphate de calcium et précipitant avec ce dernier, sous forme de phosphoparacaséinate de calcium, et une molécule de protéose soluble représentant tout au plus 4% de la caséine primitive, sorte de peptone que l'on retrouve dans le petit-lait ou sérum.

Mais, outre que le terme de « clivage », qui désigne essentiellement une séparation purement physique d'un minéral feuilleté comme l'ardoise ou le mica, ne saurait s'appliquer ici, toute cette théorie du dédoublement est basée sur l'existence de la protéose.

Or, celle-ci s'explique tout naturellement en se souvenant que la chymosine a toujours un certain pouvoir protéolytique inévitable

quoique peu prononcé. De plus, la paracaséine ne diffère pas de la caséine par sa composition chimique ; elle donne avec CaO et P_2O_5 des phosphoparacaséinates de calcium, qui se comportent dans les réactions d'une façon identique aux phosphocaséinates obtenus synthétiquement. Les seules différences entre la caséine et la paracaséine sont en effet les suivantes :

1° La paracaséine se présente en grains plus gros que la caséine correspondante, toutes deux étant obtenues par précipitations acides et dissolutions alcalines successives ; il faut, pour les dissoudre, la même quantité d'alcali, mais la dissolution est plus lente (la « maturation » est plus longue) pour la paracaséine que pour la caséine ; enfin, la première précipite à froid avec une quantité moindre de CaCl_2 que la seconde ;

2° Si l'on traite [11] un caséinate de chaux de $p\text{H}$ voisin de 7, d'une part, par la présure active, d'autre part, par la même présure tuée par un chauffage, et qu'ensuite on ajoute dans les deux cas une charge supplémentaire de chaux et d'acide phosphorique, on constate que le second ne coagule pas à moins qu'on ne lui ajoute de la présure active, tandis que le premier coagule sans présure, dès la fin de l'addition de l'acide phosphorique, en donnant « un coagulum en grumeaux irréguliers, qui, par agitation, se soudent en un bloc, en laissant exsuder un sérum légèrement opalescent, qui renferme aussi une protéose soluble ». C'est l'expérience fondamentale de PORCHER.

Cet auteur a tiré de cette expérience, d'une part une confirmation de la théorie du dédoublement, à cause de la protéose constatée dans le sérum, d'autre part un moyen de distinguer la caséine de la paracaséine : il suffit d'en faire un sel calcique de $p\text{H}$ un peu inférieur à 7 et de lui ajouter du CaCl_2 , puis de la présure. Si l'on a affaire à de la caséine, on obtient un chlorocaséinate de calcium qui coagule par la présure ; si l'on a affaire à de la paracaséine, la coagulation a lieu dès l'addition du CaCl_2 sans aucune adjonction de présure, comme dans l'expérience fondamentale.

A vrai dire, la caséine coagule aussi dans ce cas, mais elle nécessite pour cela une plus grande quantité de CaCl_2 . En tout cas l'expérience ne prouve qu'une chose, c'est que la présure a primitivement provoqué sur le caséinate une certaine modification inconnue ; elle ne prouve nullement que cette modification soit un dédoublement de la molécule de caséine en paracaséine et protéose.

B. LA POLYMÉRISATION

En somme, aucune des deux théories, physique ou chimique, ne donne d'explication satisfaisante de la coagulation du lait par la présure. Comme dans toutes choses, la vérité se trouve sans doute entre

les deux extrêmes, c'est-à-dire dans une théorie qui tienne compte jusqu'à un certain point des deux ordres de considérations précédemment exposées et donne également une explication satisfaisante du plus grand nombre de faits possibles concernant le lait, la caséine et la coagulation.

1. La Caséine dans le lait. — Il est bien certain, d'après tout ce qui précède, que la caséine, la chaux et l'acide phosphorique sont dans le lait liés entre eux sous une forme électro-colloïdale et que le schéma A de la micelle de caséine correspond sensiblement à la réalité. Dans ce schéma, les ions CaO paraissent être plus voisins de la molécule de caséine que les ions P^2O^5 . S'il s'agit précisément d'une simple adsorption électro-colloïdale, la chose est plausible, car, ce qui peut retenir les ions extérieurs, ce sont les valences acides ou alcalines de la molécule ; or, les valences acides des groupes COOH sont certainement plus fortes que les valences alcalines des groupes

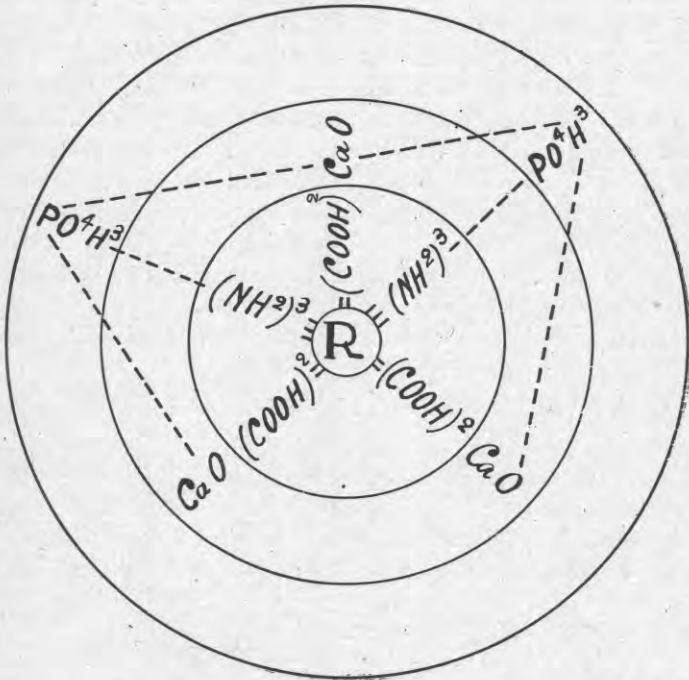


Fig. 1. — La caséine dans le lait (phosphocasinat de calcium).

Le 1^{er} cercle intérieur limite le radical R.

Le 2^e cercle limite la caséine pure.

Le 3^e cercle limite le granulé positif (Caséinate de calcium).

Le 4^e cercle limite le complexe (Caséinate de calcium + Phosphate de calcium).

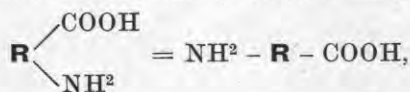
NH². Mais la position privilégiée des ions CaO s'explique également si l'on a affaire à un complexe à base de caséinate de calcium.

Par suite, on peut représenter la molécule de caséine par la fig. 1, dans laquelle le radical **R** est au centre entouré des groupes COOH et NH², les premiers au nombre d'environ 3 (114) pour 2 des seconds (83), le tout formant la partie inerte (caséine pure). Tout autour sont distribués les ions de la partie active (chaux + acide phosphorique) en deux couches, l'une, interne, portant les radicaux CaO assez fortement appliqués sur, sinon réellement combinés avec les groupes COOH, l'autre, externe, portant les molécules PO⁴H³ liées d'une façon plus lâche aux groupes NH² en même temps qu'aux groupes CaO.

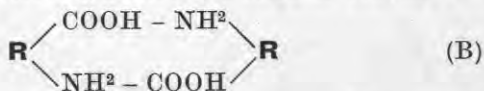
La théorie électrique des colloïdes suppose, en effet, que cette dernière liaison est très lâche puisque le granule positif, comprenant la partie inerte et les ions de la première couche, est libre de se déplacer vers l'anode, par suite de sa charge positive, sous l'influence d'un faible courant électrique, qui suffit à séparer la chaux de l'acide phosphorique suivant la théorie des électrolytes.

Ce schéma explique aussi que, quand on filtre du lait écrémé sur de la porcelaine poreuse, celle-ci retient près des 2/3 du calcium et seulement 1/3 du phosphore minéral. Cette représentation correspond du reste bien à l'idée que la caséine est, dans le lait et dans les solutions artificielles de phosphocaséinates de calcium, plutôt sous forme d'un complexe physico-chimique (caséine + chaux + acide phosphorique ou caséinate de calcium + phosphate de calcium) que sous forme d'une combinaison chimique véritable de phosphocaséinate de calcium.

De plus, si nous considérons la formule simplifiée de la caséine



il est possible, étant donné que les micelles sont probablement plurimoléculaires, que les groupes COOH et NH² soient, au moins partiellement, liés entre eux dans la profondeur d'une même molécule ou entre molécules différentes selon le schéma suivant :



Ce sont là encore des liaisons assez lâches, peu solides, étant donné la faible force alcaline des groupements NH².

En définitive, les groupes COOH, NH², CaO, P²O⁵ sont unis entre eux par des liaisons de force réduite, qui, tout en constituant cependant une faible polymérisation physico-chimique de la caséine,

sont facilement annulées par des réactifs un peu forts comme le sont les bases et les acides (réactifs chimiques), alors qu'elles ne sont pas supprimées par les sels neutres (réactifs physiques), qui se bornent à précipiter les agrégats moléculaires, tels qu'ils sont dans le lait, sous une forme pulvérulente, sans aucune modification chimique.

Ainsi se trouve déjà expliqué très simplement le comportement de la caséine vis-à-vis des bases (solution), des acides (précipitation) et des sels neutres (élimination).

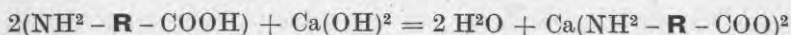
2. La Caséine présure se présente, au contraire (notamment telle que la livre l'industrie), sous forme d'un corps très difficilement attaquant par les bases ou les acides dilués, mais ayant la même composition brute que le complexe ci-dessus et que la caséine éliminée par les sels, présentant notamment aussi 7 à 8% de cendres, avec un rapport $Ca/P = 1,9$.

Si, en particulier, on en retire la paracaséine par précipitations et dissolutions successives, l'opération est plus difficile à conduire qu'avec le lait écrémé ou le complexe ; elle doit plutôt porter sur le corps dès après la coagulation par la présure qu'à la fin de la fabrication, et PORCHER conseille avec raison de ne pas partir dans ce but des caséines présure du commerce, même très purifiées, mais qui, vu les difficultés de leur attaque par les acides et les bases, donnent l'impression d'une véritable combinaison chimique stable, invariable.

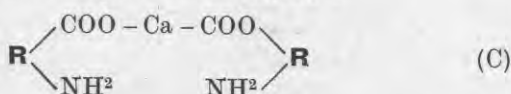
Comme les quantités respectives de caséine, de chaux et d'acide phosphorique en présence sont les mêmes que dans le complexe, il faut donc qu'elle se soient combinées, d'une façon effective, pour donner un nouveau corps chimique, un phospho(para)caséinate de calcium à 1.300 de CaO et 1.110 de P_2O_5 ($Ca/p = 1,911$), y compris les phosphoryles qui ont donc pris part à la réaction en saturant la chaux du caséinate.

Dans ces conditions le phospho(para)caséinate ne peut être qu'un polymère du complexe caséinate de calcium + phosphate de calcium. Nous pouvons en schématiser la formation comme suit :

Si nous ajoutons au schéma B de la chaux libre, il se forme un caséinate de calcium selon la réaction suivante, analogue à celle donnée précédemment pour la soude :



Ce caséinate de calcium peut aussi s'écrire :

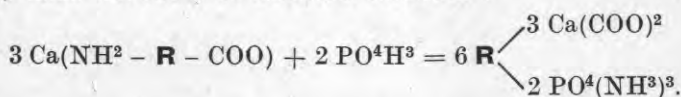


Il y a condensation de deux molécules en une seule avec élimi-

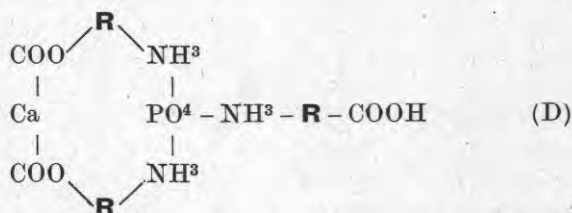
nation de deux molécules d'eau et l'opération peut théoriquement avoir lieu avec tous les carboxyles de la molécule. Remarquons que celle-ci s'accompagne d'une libération des groupes NH^2 (dépolymérisation), opération qui, dans le cas d'excès d'alcali, va même jusqu'à la libération du groupe NH^3 (formation d'ammoniaque), et qui, au point de vue viscosité, doit au moins partiellement compenser l'augmentation de cette dernière due à la condensation des deux molécules de caséine.

Cette condensation ne peut, du reste, aller plus loin avec la chaux seule, puisque les valences NH^2 restant à saturer sont elles-mêmes alcalines, et cette impossibilité persiste même si l'on fait agir la présure sur le caséinate comme dans l'expérience de PORCHER.

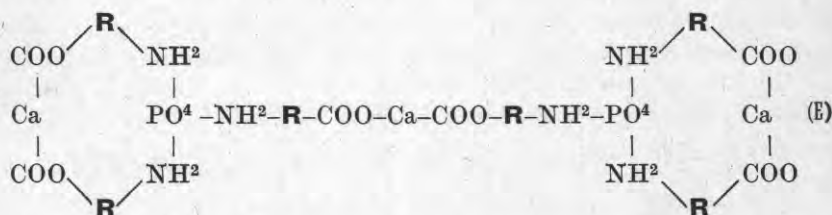
Si maintenant nous ajoutons au schéma C de l'acide phosphorique, nous obtenons la réaction suivante :



Le produit de la réaction peut être schématisé en deux temps ; tout d'abord comme suit :



Il y a condensation de trois molécules en une seule, mais il reste une valence acide non saturée, si bien qu'en prenant un second groupement tel que D, on peut obtenir une nouvelle liaison selon le schéma suivant :



Il y a condensation de six molécules en une seule, sans qu'il reste aucune valence libre, le produit définitif étant saturé ; c'est le phospho(para)caséinate de calcium, que nous pouvons représenter par la fig. 2. Aux six molécules de caséine correspondent 2 atomes

de phosphore et 3 de calcium, le rapport Ca/P étant égal à 1,9, comme dans la caséine présure elle-même.

C'est dans cette dernière seule que le corps a la forme para de la fig. 2; dans les complexes et dans le lait le phosphocaséinate de calcium a la forme de la fig. 1, c'est-à-dire de complexe électrocolloïdal à liaisons physico-chimiques.

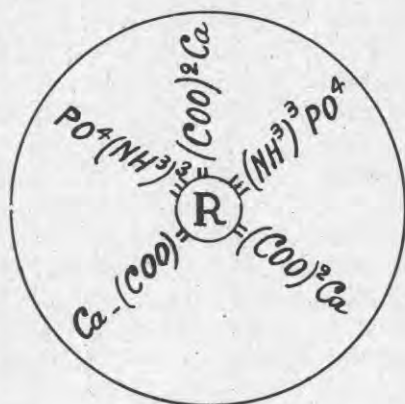
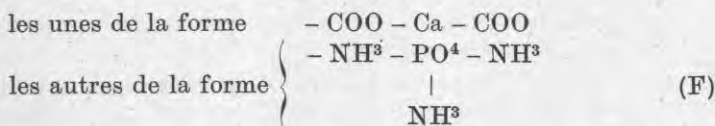


Fig. 2. — La caséine présure (phosphoparacaséinate de calcium).

En tout cas, les schémas ci-dessus donnent une bonne représentation des faits; naturellement, dans la réalité les choses ne sont pas aussi simples parce qu'il y a un très grand nombre de groupes COOH et NH^2 , que ces groupes ont des puissances de combinaison différentes et qu'ils sont déjà plus ou moins liés entre eux physico-chimiquement ou chimiquement.

Mais on conçoit facilement que, si les choses se passent suivant des schémas analogues successivement pour tous les groupes disponibles accompagnant chaque radical **R**, on puisse obtenir de proche en proche des agrégats de plus en plus volumineux.

Ces agrégats sont constitués par la dissémination dans le liquide de gros radicaux **R** réunis par des chaînettes.



Ces liaisons sont de masses très faibles par rapport aux radicaux **R**; en comparaison de ceux-ci elles sont ténues comme des fils (1), et comme le tout conserve l'état colloïdal, l'ensemble prend l'aspect d'un réseau élastique, dont les radicaux **R** sont les nœuds et les liaisons **F** les fils; les mailles de ce réseau sont évidemment microscopiques et capillaires et le tout fonctionne comme une éponge fine retenant d'abord physiquement le sérum dans ses cavités intérieures, puis l'en expulsant peu à peu au fur et à mesure que la polymérisation s'accroît et que, de ce fait, les mailles se resserrent.

3. Cas des autres complexes. — PORCHER a pu [11] dans la

(1) Disques et filaments de Hekma [6].

formation des complexes remplacer l'acide phosphorique par d'autres acides tels que :

l'acide carbonique qui donne des complexes : caséinate de calcium + carbonate de calcium ;

l'acide chlorhydrique qui donne des complexes : caséinate de calcium + chlorure de calcium.

Tous coagulent par la présure en présence de sels de chaux solubles.

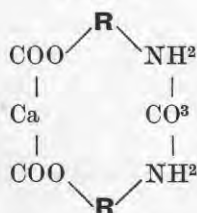
Ainsi un caséinate à 1.100 de CaO, dans lequel on fait barbotter CO_2 , prend un pH de 6,40 et coagule par la présure à 40° en donnant un caillé rétractile spongieux à grosses mailles (carboparacaséinate de calcium) avec un sérum limpide comme de l'eau.

De même un caséinate à 1.100 de CaO, additionné de 730 de HCl, prend un pH de 6,60 et coagule rapidement par la présure en donnant un caillé assez ferme (chloroparacaséinate de calcium), avec un sérum clair.

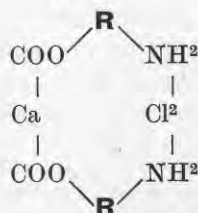
Dans les deux cas, le sérum contient une protéose soluble.

On peut schématiser comme suit la formation des deux produits finaux :

Carboparacaséinate de calcium



Chloroparacaséinate de calcium



On voit que la polymérisation ne paraît pas aussi poussée que dans le cas du phosphoparacaséinate de calcium ; toutefois, ce dernier n'est pas complètement absent, puisqu'il doit, ici aussi, résulter de la saturation d'une partie de la chaux par les phosphoryles de la molécule de caséine ; on obtient donc toujours une part de phosphoparacaséinate de calcium.

Mais, de ce fait, les coagulums n'ont pas entièrement l'aspect compact et porcelainique de ce dernier ; ils sont plus ou moins mous, collants, gélatineux. Il y a longtemps que HAMMARSTEN [1] avait remarqué que l'acide phosphorique était indispensable pour donner un caillé d'aspect normal, dû à une polymérisation très poussée.

4. La coagulation de la caséine. — En résumé :

La caséine est dans le lait sous une forme physico-chimique, analogue à celle des schémas A et B et de la fig. 1, unie à la chaux

et à l'acide phosphorique par des liaisons faibles, n'empêchant pas l'ensemble de présenter dans l'eau une forme liquide homogène analogue à une simple adsorption électro-colloïdale de la chaux et de l'acide phosphorique par la caséine ou par le caséinate de calcium, plutôt qu'à une véritable combinaison chimique (micelles paucimoléculaires). C'est également sous cette forme de complexe que se trouve la caséine dans les phosphocaséinates de calcium synthétiques, qui se présentent également sous un aspect de solution-suspension colloïdale.

La caséine est, après coagulation par la présure, sous une forme polymérisée chimiquement, analogue à celle du schéma E et de la fig. 2, unie à la chaux et à l'acide phosphorique par des liaisons fortes d'ordre chimique donnant à l'ensemble une forme solide quoique toujours colloïdale (gel multimoléculaire); sous cette forme, la polymérisation est intense; elle s'accroît au fur et à mesure du travail et du chauffage du caillé, resserrant de plus en plus les mailles du réseau.

La comparaison des fig. 1 et 2 montre bien la transformation qui s'est produite. En fait, on passe d'une façon lente et continue de l'une à l'autre, la fig. 2 représentant plus particulièrement l'état de la caséine présurée à la fin de sa fabrication (séchage compris) qui, en pratique, dure plusieurs heures.

La coagulation consiste donc à passer du premier état au second; dans cette opération, deux ordres de corps jouent un rôle, la présure et les sels de chaux solubles, qui sont, en effet [1 et 11], indispensables pour que la coagulation ait lieu. Pour concevoir comment chacun d'eux agit, revenons aux expériences concernant la formation des phosphocaséinates de calcium.

Quand on ajoute de l'acide phosphorique à un caséinate de calcium convenable, on peut obtenir trois résultats différents:

1° Caséinate de calcium + PO^4H^3 = précipitation de caséine et de phosphate tricalcique;

2° Caséinate de calcium + PO^4H^3 + agitation violente = formation d'un complexe physico-chimique colloïdal (phosphocaséinate de calcium).

3° Caséinate de calcium + présure + POH^3 = formation d'une combinaison chimique (phosphoparacaséinate de calcium).

Dans ce dernier cas, on fait agir la présure sur le caséinate et on obtient ensuite la coagulation par simple addition d'acide phosphorique; c'est l'expérience fondamentale de PORCHER qui montre bien que c'est sur la caséine elle-même qu'agit la présure; si, en réalité, on n'a pas constaté cette action sur la caséine pure, c'est sans doute parce que cette dernière est insoluble et ne peut prendre l'état colloïdal que par addition d'une base.

En tout cas, comme à la fin de l'opération les groupements $P^{2}O^{5}$, $COOH$ et NH^{2} de la molécule de caséine sont unis chimiquement aux ions CaO et $P^{2}O^{5}$ environnants, il faut nécessairement que groupements et ions aient été entre temps libérés des liaisons plus ou moins lâches qui les tenaient unis précédemment.

La libération des ions CaO et $P^{2}O^{5}$ environnants est le fait des sels de chaux solubles, qui, mis en solution dans le liquide intermicellaire, se partagent, suivant la théorie des électrolytes, en ions Ca^{+} et acide $^{-}$, qui agissent sur le phosphate tricalcique présent et sans doute aussi sur la chaux du caséinate et déclenchent la libération électrolytique des ions CaO et $P^{2}O^{5}$. Il faut peu de ces sels de chaux solubles parce qu'il s'agit là d'une action analogue à celle que produit un cristal dans une solution sursaturée qu'il fait cristalliser.

La libération des groupements $P^{2}O^{5}$, $COOH$ et NH^{2} de la molécule de caséine est le fait de la présure. En particulier, en ce qui concerne les phosphoryles, ceux-ci jouent un rôle important dans la coagulation par la présure, puisque [18] la caséine déphosphorylée ne coagule plus par celle-ci et que cette même caséine rephosphorylée coagule à nouveau (1). Ce sont eux quiaturent la chaux du caséinate de calcium du lait.

On pourrait penser que le caséinate de l'expérience de PORCHER devrait déjà coaguler sous l'action de la présure, puisque nous avons en présence la chaux du caséinate et l'acide phosphorique des phosphoryles; il n'en est rien parce que la charge de la caséine en phosphate tricalcique, et par suite le degré de polymérisation, sont insuffisants: cette charge n'est, en effet, que de 1.180 (4%), alors qu'à la fin de l'expérience de PORCHER elle est, y compris l'acide phosphorique des phosphoryles, de 2.210 (7,0%) et que dans le lait ou dans le complexe obtenu avec les doses que nous avons indiquées précédemment, elle est de 2.410 (7,5%).

L'ensemble des éléments libérés, tant par les sels de chaux solubles que par la présure, se recombine ensuite sous une forme purement chimique de phosphoparacéinate de calcium, qui garde la structure colloïdale de ses constituants, mais est un corps défini polymérisé chimiquement (2). Pour arriver à ce résultat, il a fallu que les éléments en présence reprennent, sous l'influence de la

(1) On a même obtenu la coagulation (ou la précipitation) par la présure de la globuline phosphorylée. — C. NEUBERG et W. OERTEL. *Über die Einführung von Phosphorsäure in Proteine*. *Biochemische Zeitschrift*, 1914.

Par ailleurs le fait que la paracéine ne coagule plus par la présure peut s'expliquer non seulement parce qu'elle est saturée, mais aussi parce qu'elle est déphosphorylée.

(2) Dans la coagulation (ou précipitation volumineuse) sans présure, des caséinates ou phosphocaséinates de calcium, les sels de chaux solubles agissent, non comme coagulants, mais plutôt comme déshydratants, puisque, par exemple, il ne faut pas moins de 11 % de $CaCl^{2}$ pour coaguler un caséinate de chaux à 400 de CaO .

présure et des sels de chaux solubles, une liberté temporaire au moins relative permettant leur action subséquente les uns sur les autres.

De là résulte d'abord la cessation de la polymérisation physico-chimique des schémas A et B, qui se traduit par une réduction de la viscosité [7] et par l'augmentation à la fois de l'acidité et de l'alcalinité ioniques comme conséquence de la libération des valences acides et alcalines en question, tant minérales qu'organiques [8].

Puis la viscosité augmente de nouveau pour devenir infinie avec le phosphoparacaséinate. Mais, si l'on sépare par précipitations acides et redissolutions alcalines successives la paracaséine de ce dernier, il est bien évident que l'on ne reconstitue pas les phosphoryles de la caséine primitive, qui restent donc à l'état d'acide phosphorique ; il en est probablement de même de certains groupements COOH et NH^2 qui ne se recombinent pas entre eux dans la profondeur de la molécule. Ceci explique que l'acidité et l'alcalinité ioniques de la paracaséine soient plus élevées que celles de la caséine [8].

En tout cas, la coagulation se fait en deux temps :

Dans une première phase, il y a libération des groupes COOH , NH^2 , CaO et P^2O^5 , c'est-à-dire destruction de la légère polymérisation physico-chimique qui existe dans la caséine du lait avec libération simultanée des phosphoryles ; à cette phase correspond la réduction de la viscosité [7].

Dans une deuxième phase les groupes se recombinent lentement pour former le phosphoparacaséinate de calcium : la polymérisation reprend sous une forme chimique plus stable (augmentation de la viscosité, saturation du produit).

Cette deuxième phase comporte elle-même deux périodes :

Dans la première, il y a surtout combinaison de la chaux avec les groupements acides à cause de la valence de ceux-ci plus forte que celle des groupements alcalins, ce qui donne un paracaséinate peu condensé, avec groupes NH^2 encore libres, le tout de viscosité faible ; c'est la période où la viscosité reste sensiblement étale.

Dans la seconde, l'acide phosphorique se combine à son tour, tant avec les groupes NH^2 qu'avec les ions CaO , ce qui donne le phosphoparacaséinate de calcium, de viscosité de plus en plus élevée proportionnellement à la polymérisation ; c'est la période pendant laquelle la coagulation devient visible à l'œil nu.

Comme la première phase consiste en une dépolymérisation, c'est-à-dire tend vers une solubilisation au moins relative de la caséine, ceci peut expliquer l'action protéolytique de la chymosine et l'existence de la protéose soluble par solubilisation partielle mais durable de la caséine ; on comprend que, dans ces conditions, cette solubilisation soit inévitable, mais légère (4%).

Tout ceci confirme également que la coagulation par la présure est un phénomène continu et progressif, et non pas un phénomène brusque, comme l'est une précipitation minérale quelconque, et comme, semble-t-il, devrait l'être un dédoublement chimique de la molécule de caséine en deux corps différents.

On voit d'ailleurs, au microscope, les particules de phosphocasinatate de calcium perdre leur mouvement brownien et grandir au fur et à mesure que la coagulation avance, jusqu'à ce que le tout se prenne en une seule masse. C'est à ce moment seulement qu'on voit la coagulation à l'œil nu et qu'on dit qu'elle se produit ; mais ce moment n'est pas un point singulier de la courbe exprimant le phénomène ; c'est seulement le point particulier où l'œil humain s'en aperçoit sans le secours d'aucun instrument. Le phénomène se poursuit d'ailleurs après la coagulation visible et se traduit alors par la rétraction du caillé.

En résumé, la présure et les sels de chaux solubles produisent sur le complexe : caséinate de calcium + phosphate de calcium, une action catalytique de dépolymérisation physico-chimique, sans doute suffisante pour que le reste des opérations se poursuive ensuite automatiquement. Cette action est, en effet, immédiatement suivie d'une polymérisation chimique irréversible, dans laquelle la chaux et l'acide phosphorique jouent le rôle de plastifiants. Physiquement parlant, le produit obtenu, qui est la caséine présure, est polymérisé et plastique ; chimiquement parlant, il est saturé et ne peut plus guère pratiquement entrer en combinaison avec les bases ; il est donc insoluble.

Au contraire, les acides produisent sur le même complexe une décomposition chimique réversible par dissolution et élimination de la chaux et de l'acide phosphorique. Physiquement parlant, le produit obtenu, qui est la caséine acide, est dépolymérisé et non plastique ; chimiquement parlant, il a ses valences libres et se combine facilement aux bases (caséinates) ; il est donc soluble.

Cette théorie concorde avec le peu que nous savons du pouvoir catalytique des enzymes : le type de réactions dont nous avons parlé est essentiellement le fait d'une action catalytique, car celle-ci consiste uniquement à dénouer des liaisons de saturation, puis éventuellement à les réactiver, ce qui en amène la transposition du plan physique sur le plan chimique, et par suite la consolidation.

Ceci ne saurait, en effet, s'expliquer par des idées de chimie pure, une combinaison chimique entre plusieurs corps ne pouvant du reste se transformer en une autre de même composition que s'il s'agit d'isomères ou de polymères.

C. LES VÉRIFICATIONS

1. Les vérifications faites.

La théorie de la polymérisation de la caséine nous a déjà permis, dans ce qui précède, de donner une explication satisfaisante des divers faits rencontrés au cours de cette étude, et qui peuvent par suite être considérés comme autant de vérifications de la théorie ; les principaux de ces faits sont les suivants :

a) *Pour la caséine du lait :*

Rétention du calcium et du phosphore sur bougie filtrante.

Différences entre la précipitation par les acides, l'élimination par les sels et la coagulation par la présure.

b) *Pour les dérivés de la caséine :*

Formation des caséinates et des phosphocaséinates.

Action de la présure sur le caséinate de calcium.

c) *Pour la coagulation de la caséine :*

Apparence microscopique du lait en train de coaguler.

Variations de la viscosité et des acidités et alcalinités ioniques.

Rôle des phosphoryles et des sels de chaux solubles dans la coagulation.

Rapports du calcium au phosphore dans les divers produits.

Constitution du coagulum sous forme de réseau rétractile.

d) *Divers :*

Existence et nature de la protéose.

Continuité du phénomène de la coagulation.

Mais cette théorie explique également bon nombre d'autres faits tels que les suivants, tout à fait inexplicables dans les autres hypothèses :

1° Les auteurs qui ont voulu calculer ou mesurer le *poids moléculaire de la caséine* ont trouvé des chiffres variant de 8.800 [5] à 375.000 [12]. Ces différences tiennent évidemment à des différences de polymérisation de la molécule ou des micelles du produit étudié. Le premier chiffre a, en effet, été obtenu en partant de caséinates nécessairement peu polymérisés, le second en partant de caséine pure (provenant elle-même d'un phosphocaséinate), qui, seule, donne un poids moléculaire de 75.000 à 100.000, mais qui, chauffée à 40° dans une solution tampon de phosphates de $pH = 6,8$, donne divers produits certainement plus polymérisés (phosphocaséinates), dont le poids moléculaire va de 188.000 à 375.000.

2° La *paracaséine* est plus difficilement soluble dans les alcalis et coagule aussi plus facilement que la caséine par addition d'un sel

minéral tel que CaCl_2 , c'est-à-dire avec une quantité moindre de sel. C'est que la paracaséine, obtenue par précipitations acides d'un caillé de présure fortement polymérisé, reste partiellement polymérisée, la dépolymérisation n'étant pas complète malgré l'action des alcalis employés à la dissoudre. Ce qui le montre également, c'est que la paracaséine se présente normalement en grains plus gros que la caséine pure correspondante.

3° Les *teneurs en eau des caillés* de fromagerie et de caséine sont, rapportées à la quantité de caséine présente, très différentes [15] et varient depuis 45% pour les caillés (de caséine présure) obtenus avec le maximum de présure et la température la plus élevée (37°) jusqu'à 85% dans les caillés (de fromages frais) obtenus à basse température (15°) avec le minimum de présure. La condensation des molécules, au moyen de la chaux, qui se produit avec élimination d'eau, est, en effet, d'autant plus poussée, et par suite la teneur en eau d'autant moindre que l'action de la présure a été plus intense ; plus cette condensation est avancée, moins le produit retient d'eau de combinaison.

4° La *plasticité de la caséine* provient de sa polymérisation même, ainsi que celle de toutes les matières plastiques naturelles ou artificielles (bakélites). Ce qui le prouve bien, c'est que, si cette polymérisation est incomplète, comme c'est le cas lorsque l'on traite par la présure des laits acides où le phosphate de chaux n'est plus colloïdal, mais partiellement solubilisé dans le sérum par l'acide, le produit plastique obtenu est cassant et de mauvaise qualité. La caséine lactique, entièrement dépolymérisée, n'est plus plastique et ne sert qu'à faire des colles.

Du reste, plus on s'éloigne du début de l'emprésurage, plus les liaisons deviennent nombreuses et solides et moins le produit obtenu est dépolymérisable, par exemple au moyen d'alcalis ; la caséine présure du commerce séchée n'est pour ainsi dire plus attaquable par les bases diluées.

2. Les vérifications à faire.

Ainsi donc, les vérifications de la théorie de la polymérisation sont déjà tellement nombreuses, sans qu'il paraisse y avoir de contradictions d'autre part, que l'on peut considérer cette théorie comme bien assise. Mais cela ne veut pas dire qu'il n'y ait pas d'autres vérifications à faire. Celles-ci sont de deux sortes :

a) *Expériences antérieures.* — Il y aurait d'abord à répéter, d'une façon systématique, ce qui n'a jamais été fait à notre connaissance, toutes les expériences importantes que nous avons signalées successivement, parce que, dans une matière aussi délicate que la caséine,

l'auteur d'une expérience peut être facilement, quoique involontairement, trompé par des apparences peu nettes. C'est ainsi que, parfois, on fait difficilement la différence entre une coagulation en bloc analogue à celle causée par la présure et une précipitation volumineuse qui, au début, peut, comme celle-ci, remplir la totalité du volume liquide. Il faut donc que les coagulums soient bien nets et que les expériences soient répétées ainsi que les analyses, de façon à ce qu'il ne reste pas de doute sur la réalité des résultats obtenus et des conclusions à en tirer.

Dans ce cas sont les expériences suivantes :

Expériences de DUCLAUX et VAN SLYKE concernant la filtration du lait sur porcelaine poreuse, avec lavage ou dialyse de la matière retenue et analyse poussée de celle-ci et des filtrats.

Expériences de DUCLAUX, VAN SLYKE, SVEDBERG sur la sédimentation de la caséine ainsi que sur l'entraînement ou la rétention partielle des autres éléments du lait.

Expériences de HAMMARSTEN sur l'élimination de la caséine par les sels et sa coagulation par la présure, avec analyses comparées des deux produits obtenus, notamment de leur teneur en Ca et P.

Expériences fondamentales de HAMMARSTEN et de PORCHER concernant l'action de la présure sur le caséinate et le phosphocaséinate de calcium. Il faudrait voir en particulier :

si l'expérience de PORCHER ne peut pas donner, au moment de l'addition de P_2O_5 , un caillé blanc porcelainique au lieu d'un caillé en grumeaux irréguliers, ce qui renforcerait la conclusion à en tirer ;

si cette expérience ne pourrait pas être répétée en faisant agir la présure directement sur la caséine pure elle-même.

Il y aurait également lieu de voir ce que donne exactement la coagulation par la chaleur à 130° environ, si, dans ce cas, le coagulum diffère de celui de la présure et s'il y a formation de protéose soluble.

Naturellement, toutes ces expériences doivent être faites en plusieurs exemplaires et être répétables à volonté, c'est-à-dire qu'il faut en fixer les détails d'une façon très précise, comme l'a fait PORCHER lui-même [11], de petites variations dans les conditions physiques ou chimiques de l'expérience étant susceptibles de donner des différences importantes dans les résultats.

b) *Expériences cruciales.* — Mais les expériences précédentes ne feront que confirmer ou infirmer celles des divers auteurs et les conclusions que l'on a pu en tirer. Rien ne vaudrait une expérience cruciale susceptible de démontrer d'une façon absolue la justesse de la théorie de la polymérisation. Une telle expérience est-elle possible ?

Il s'agit, en somme, d'atteindre la molécule de caséine et de voir si elle se polymérise réellement. Pour cela, il faut mesurer les poids

moléculaires (ou micellaires). Les méthodes habituelles des cristalloïdes, basées sur des variations du point de congélation, du point d'ébullition, de la tension de vapeur, etc..., ne sont guère applicables ici.

Cependant le point de congélation, et éventuellement aussi le point d'ébullition seraient peut-être utilisables pour la recherche du poids moléculaire de la caséine pure en mettant celle-ci sous forme d'un caséinate très soluble et vraisemblablement pas polymérisé. Il nous paraît que ce pourrait être le cas d'un caséinate ou d'un phosphocaséinate d'ammoniaque de $pH = 7$ (neutre); on pourrait toujours voir, d'ailleurs, en faisant varier le pH , si le poids moléculaire varierait aussi.

Par contre, pour la caséine, soit en solution-suspension colloïdale comme dans le lait, soit sous forme de caséinates ou de phosphocaséinates plus polymérisés, il n'y a guère que des méthodes purement mécaniques qui puissent être appliquées, notamment la sédimentation naturelle ou mieux centrifuge et la filtration ordinaire ou mieux l'ultrafiltration sur filtres différents, de porosités connues par comparaison avec des cristalloïdes de poids moléculaires également connus.

Il y aura lieu seulement, dans ce cas, de voir si l'on obtient de cette façon le poids de la molécule ou celui de la micelle, et il sera peut-être difficile de décider, à cet égard, la polymérisation pouvant aussi bien aboutir à la seconde qu'à la première.

Ces mêmes méthodes mécaniques, sans aucune action chimique, sont aussi, à notre avis, les seules permettant de décider si la caséine est une substance homogène ou hétérogène. Dans ce dernier cas, en effet, les molécules ou les micelles ont bien des chances de n'avoir pas les mêmes dimensions. Une ultrafiltration appropriée doit donc pouvoir les séparer, après quoi il n'y a plus qu'à examiner les propriétés des divers corps ainsi isolés.

Il y a là, en tout cas, un vaste champ à défricher. C'est pour préparer ce défrichement, dans l'intention des laboratoires qui seraient tentés par la question, que nous avons écrit la présente note, résumant tout ce que l'on sait à l'heure actuelle à ce point de vue.

BAYONNE (Basses-Pyrénées), juillet 1940.

BERCHÈRES-sur-VESGRE (Eure-et-Loir), octobre 1940.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] HAMMARSTEN. Etudes sur la caséine. Om myölkystningen och de dervid verksamma fermenterna i magslemhinan. Om det kemiska förloppet vid caseinets coagulation med löp. *Upsala läkare föreningens förhandlingar* VII et IX Upsala 1872-73-74. — Zur Kenntniss des Kaseins und der Wirkung des Labfermentes. Upsala 1877.

- [2] HAMMARSTEN. Etudes sur la *présure*. — Zur Frage nach der Identität der Pepsin- und Chymosinwirkung. — Ueber die Darstellung von pepsinarmen und pepsinfreien Chymosinlösungen. Ein neues Verfahren zur Aufhebung der Parallelität zwischen Chymosin und Pepsinwirkung. Wirkung der Enzyme auf Erbsenlegumine. *Hoppe Seyler's Zeitschrift der physiologischen Chemie*. 56, 74, 94 et 102, 1908 à 1918.
- [3] DUCLAUX. Le lait. Etudes chimiques et microbiologiques, Paris, 1889. Principes de laiterie, Paris, 1894.
- [4] KREIDL et NEUMANN. Ultramikroskopische Beobachtungen über das Verhalten des Kaseinsuspensionen. *Pflüger's Archiv*. 123, 1908.
- [5] VAN SLYKE et ses élèves (BOSWORTH, BOWDICH, BAKER). Etudes sur la caséine : Constitution and properties of some casein and paracasein compounds and their relations to cheese. Conditions of casein and salts in milk. Studies relating to milk. *New-York State agricultural experiment station Technical Bulletins* Nos 26, 39 et 61. Geneva 1912, 1915, 1918. The preparation of dry powdered casein. *American journal of diseases of children*. Washington, 1914.
- [6] HEKMA. Les particules de caséine en suspension dans le lait. La formation de filaments dans le lait par l'action de la présure. *Rapport de l'Association pour l'exploitation d'une ferme expérimentale*. Hoorn, 1921.
- [7] LÜERS et ses élèves (DIEM et BADER). Etudes sur la présure : Ueber die Adsorptionsreinigung des Labenzymes. *Milchwirtschaftliche Forschungen*. 2, 1925. Ueber die Reinigung des Chymosins. *Biochemische Zeitschrift*, 190, 1927.
- [8] PALMER et RICHARDSON. The colloid chemistry of rennet coagulation *Colloid symposium monograph*, New-York, 1925.
- [9] LINDENSTRÖM-LANG. Is casein an homogeneous substance ? On the fractionation of casein. *Rapports du laboratoire de Carlsberg*, 16 et 17. Copenhague, 1925.
- [10] SUTTERMEISTER. Casein and its industrial applications. New-York, 1927.
- [11] PORCHER. Le lait au point de vue colloïdal. Lyon, 1929.
- [12] SVEDBERG, L. M. et T. C. CARPENTER. The molecular weight of casein. *Journal of the american chemical Society*, 1930.
- [13] CHERBULEZ et SCHNEIDER. La caséine n'est pas un corps homogène. *Le Lait*. Paris, 1933.
- [14] BEAU. Nouvelle théorie concernant l'action de la présure sur la caséine du lait. *Le Lait*, 1932. — La présure et la coagulation du lait. *Ergebnisse der Enzymforschung*. Leipzig, 1935.
- [15] BEAU. L'industrie fromagère I. La science fromagère. Paris, 1926.
- [16] LINDET et AMMANN. Divers travaux sur la caséine. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*. Paris, 1906, 1912, 1913.
- [17] PIEN et HERSCHDORFER. Sur le dosage des matières minérales des caséines industrielles. *Le Lait*, 1933.
- [18] RIMINGTON. Phosphorylation of proteine. *Biochemical Journal*, 1927.
- [19] HOWATT et WRIGHT. The heat coagulation of caseinogen. *Biochemical Journal*, 1934-1937.
- [20] LINDET. Sur les formes que le phosphore et le calcium affectent dans la caséine du lait. *Annales de l'Institut agronomique*. Paris, 1921.