

## PRÉSENCE ANORMALE DE NITRITES DANS DES FROMAGÉS A PÂTE COLORÉE

par

L. BLANCHARD

Trois fromages Pont-l'Evêque, apportés au laboratoire, présentent sur leur coupe une pâte de coloration brune ou verte fortement prononcée. Leur croûte est bulleuse et leur odeur est fortement ammoniacale. Ils font partie d'un lot dont presque tous les individus ont une pâte aussi colorée. L'ingestion de quelques-uns de ces fromages aurait déterminé des troubles intestinaux chez l'homme.

Deux cobayes ont ingéré sans troubles deux à trois grammes d'un de ces trois fromages.

En raison de la forte teneur en ammoniacque de ces fromages, l'hypothèse vient à l'esprit que les accidents chez l'homme pouvaient avoir été provoqués par des nitrites provenant de l'ammoniacque par transformation microbienne. Aussi les recherches ont-elles été orientées selon cette hypothèse.

La composition des fromages est la suivante :

	Fromage A	Fromage B	Fromage C
Extrait sec.....	40,21 %	40,29 %	40,85 %
Matières grasses :			
En % du fromage .....	5,30	6,76	7,65
En % de l'extrait sec .....	13,18	16,78	18,72

L'extrait sec (4 gr. 103) du fromage C dont la pâte était brune a été trituré avec 50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. Le mélange a été filtré. La réaction de Zambelli, spécifique des nitrites, s'est montrée fortement positive avec 5 cm<sup>3</sup> du filtrat. L'addition de 0 cm<sup>3</sup> 2 du réactif de Zambelli (solution hydro-chlorhydrique d'acide sulfanilique et de phénol, à demi saturée de chlorure d'ammonium) a provoqué un précipité qui s'est complètement redissous après addition de 0 cm<sup>3</sup> 2 d'ammoniacque concentrée. Le restant du filtrat, soit 40 cm<sup>3</sup> a été déféqué selon CARREZ par le ferrocyanure zincique et le volume final a été porté à 100 cm<sup>3</sup>. Le déféquat fournit lui aussi un Zambelli fortement positif. Le dosage des nitrites a été effectué par iodométrie sur 5 cm<sup>3</sup> du déféquat : 2 cm<sup>3</sup> d'iodure de potassium à 10 % puis 5 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique 2N ont été ajoutés ; l'iode libéré a été titré par le thiosulfate de sodium N/100. La teneur en acide nitreux de la pâte du fromage C a été 0 gr. 140 %.

Cinq autres fromages Pont-l'Evêque dont deux à pâte d'un brun presque noir, deux à pâte verte et un à pâte de coloration normale ont été analysés. 10 gr. de pâte de chaque fromage ont été triturés séparément avec de l'eau distillée puis soumis à la défécation selon CARREZ, le volume final étant porté à 100 cm<sup>3</sup> pour chaque pâte.

La recherche qualitative des nitrites a été effectuée sur chacun des déféquats par la réaction de Zambelli (sur 10 cm<sup>3</sup> de déféquat) et par une réaction que DENIGÈS donne comme absolument spécifique des nitrites et qui a été pratiquée comme il suit : 2 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique phéniqué (phénol pur bien blanc 1 gr. + 4 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique concentré pur de D = 1,84 + eau distillée 100 cm<sup>3</sup>) ont été additionnés de 2 cm<sup>3</sup> d'acétate mercurique (oxyde mercurique 3 gr. 5 + acide acétique cristallisable 20 cm<sup>3</sup> + eau distillée 100 cm<sup>3</sup> + 0 cm<sup>3</sup> 5 d'acide sulfurique concentré pur de D = 1,84; Filtrat). Le mélange a été porté à l'ébullition et 10 cm<sup>3</sup> de déféquat ont été ajoutés. La présence de nitrites a été révélée par une coloration rouge ou rose.

Les résultats de la recherche qualitative des nitrites sont :

	Fromages à pâte brune	Fromages à pâte verte		Fromage normal
	I et II	III	IV	V
ZAMBELLI .....	+++++++	+	++	O
DENIGÈS .....	+++++++	+	++	O

Le dosage de l'acide nitreux a été pratiqué par iodométrie. 10 cm<sup>3</sup> de chaque déféquat ont été additionnés de 3 cm<sup>3</sup> d'iodure de potassium à 10% puis de 4 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique 2 N. L'iode libéré a été titré par le thiosulfate de sodium, N/100. Les teneurs en acide nitreux trouvées ont été :

Fromages à pâte brune		Fromages à pâte verte		Fromage normal
I	II	III	IV	V
0,117%	0,127%	0,0019%	0,0047%	< 0,0005%

Le dosage de l'acide nitreux par manganimétrie en milieu acide (DENIGÈS) a été impraticable dans les déféquats selon CARREZ : le déféquat provenant du fromage normal réduit, lui aussi, le permanganate de potassium.

Les chlorures ont été déterminés sur le déféquat par le procédé Charpentier-Volhard.

Les compositions de ces cinq fromages étaient :

	Fromages à pâte brune		Fromages à pâte verte		Fromage normal
	I	II	III	IV	
Extrait sec . . . . .	43,03 %	44,40 %	41,85 %	—	45,51 %
Matières grasses :					
En % du fromage .	6,09	8,29	—	—	7,59
En % de l'extrait sec . . . . .	14,15	18,67	—	—	15,59
Chlorure de sodium ..	0,70	0,93	1,46	1,81	2,17

De ces recherches il résulte :

1° Que les huit fromages avaient des compositions sensiblement semblables quant à l'extrait sec et aux matières grasses ;

2° Que les fromages à pâte brune contenaient des nitrites en très forte proportion tandis que leur teneur en chlorure de sodium était relativement faible ;

3° Que les fromages à pâte verte contenaient des nitrites en quantités beaucoup plus faibles et leur teneur en chlorure de sodium, tout en étant supérieure à celle des fromages à pâte brune, était inférieure à celle du fromage normal ;

4° Que le fromage normal ne contenait pas de nitrites. Sa teneur en chlorure de sodium était relativement élevée : 2,17 %.

Comment expliquer la présence de nitrites dans ces fromages à pâte colorée ? L'hypothèse d'une substitution, par méprise involontaire, de nitrite de sodium au chlorure de sodium dans le salage des fromages lors de leur préparation est à écarter sans aucun doute puisque les teneurs en nitrites sont très différentes entre elles. Ces fromages étaient fortement ammoniacaux : les nitrites pouvaient provenir d'une action microbienne spéciale sur l'ammoniaque. On sait, en effet, depuis les travaux de WINOGRADSKY que certains microbes, notamment *Nitrosobacter*, oxydent l'ammoniaque en acide nitreux. Malheureusement notre travail est incomplet puisque ces microbes spéciaux n'ont pas été recherchés.

Comment expliquer la coloration de la pâte des fromages analysés ? L'hypothèse la plus simple est que cette coloration pouvait être due à l'action de tyrosinases microbiennes, qui ont

pour effet de former des mélanines de coloration foncée aux dépens de la tyrosine constitutive de la caséine. Là aussi, notre travail est incomplet : ces tyrosinases n'ont pas été recherchées.

Existe-t-il un lien entre la présence de nitrites et l'existence de la coloration de la pâte ? Enfin, les phénomènes observés : présence de nitrites et existence de la coloration, peuvent-ils être attribués aux différences trouvées dans les teneurs en chlorure de sodium, la plus ou moins grande concentration en ce sel pouvant modifier le milieu et en conséquence la flore microbienne se développant dans la pâte ? Ces deux dernières questions restent encore sans réponse.

Mais la présence de nitrites dans des fromages est en soi un phénomène assez singulier qui, à notre avis, méritait d'être signalé.

#### BIBLIOGRAPHIE

- C. CARREZ. Défécation du lait pour le dosage du lactose par les liqueurs cupriques, 1909. *Rep. de Pharm.*, XXI, 102.
- G. DENIGÈS, L. CHELLE et A. LABAT. Précis de chimie analytique, 1930. Paris, Maloine, t. I, p. 118.
- S. WINOGRADSKY. Sur les organismes de la nitrification, 1890. *C. R. Ac. Sc.*, CX, 1013-1016.
- ZAMBELLI in MOLLIEX. Analyse chimique des eaux potables, 1924. Paris, Le François, p. 55.

### RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LE LAIT DE VACHE ACTINISÉ (1)

#### I.— INFLUENCE DE L'ACTINISATION SUR LA TENEUR DU LAIT EN VITAMINE B<sub>1</sub> ET EN VITAMINE B<sub>2</sub>

par

JEANNE BOISSELOT et JEAN CAUSERET

On sait que le lait de vache est riche en vitamine B<sub>1</sub> (aneurine), et plus encore en vitamine B<sub>2</sub> (lactoflavine). D'après M<sup>me</sup> L. RANDOIN (2), cet aliment en renferme respectivement, en moyenne, 0 mgr. 530 et 1 mgr. 340 par litre : il peut donc contribuer pour une assez large part à la couverture des besoins de l'homme en ces deux vitamines (3).

(1) *Bull. Soc. Sc. Hyg. Aliment.*, 1946, XXXIV, 176. Première partie de ce Mémoire reproduite dans « Le Lait », 1948, 26.

(2) M<sup>me</sup> L. Randoïn. Les vitamines du lait de vache. Les rapports et équilibres biochimiques caractérisant le lait de vache, le lait de femme et la ration équilibrée de l'adulte. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1941, 23, 437.

(3) Rappelons que, d'après les Normes proposées par M<sup>me</sup> L. Randoïn, les besoins en vitamines B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub> de l'adulte d'activité moyenne seraient respectivement de 1 mgr. 50 et de 2 mgr. 25 par jour.