

LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :

- L. M. BURUIANA et V. PAVLU.
— Le comportement polarographique des protéines de la caséine 481
- A. NEVOT, PH. LAFONT et J. LAFONT. — De la destruction des bactéries par la chaleur. Etude de l'efficacité de la pasteurisation du lait 488
- J. E. AUCLAIR et A. PORTMANN. — Influence du chauffage du lait sur le développement des bactéries. 496
- A. DES COURTILS. — La production laitière française dans le marché commun 519

Bibliographie analytique :

- 1^o Les livres 525

- 2^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 528
- 3^o Brevets 571

Bulletin bibliographique :

- 1^o Les livres 573
- 2^o Revues, Journaux, Sociétés savantes 574
- 3^o Brevets 579

Documents et informations :

- A propos du XV^e Congrès International de Laiterie 580
- Panorama du lait à travers les âges : Le bon fromage de Sassenage 583
- Production laitière mondiale en 1958. 590
- Communiqués 591
- Erratum 592

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

LE COMPORTEMENT POLAROGRAPHIQUE DES PROTÉINES DE LA CASÉINE

par

L. M. BURUIANA et V. PAVLU

Ce sont DANILEWSKY et RADENHAUSEN [7] qui ont supposé pour la première fois l'hétérogénéité de la caséine.

LINDERSTRÖM-LANG et KODAMA [10] ont tenté la séparation de divers composants, et O. MELLANDER [11] a le mérite d'avoir réussi à identifier et à isoler électrophorétiquement ces composants, désignés depuis par α , β , γ , caséines. Le pourcentage de ces trois fractions pour le lait de vache est respectivement de 75 %, 22 % et 3 %.

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

Dans le présent travail nous rapportons quelques résultats concernant le comportement polarographique de diverses protéines de la caséine et les conséquences qui en découlent.

Depuis quelque temps, nous utilisons l'analyse polarographique pour étudier les particularités de structure de certaines protéines et leurs modifications sous l'action des enzymes [1, 2, 3, 4]. La justification de ce procédé d'investigation est basée sur le fait que la mobilité du proton des différents groupements prototropiques de la molécule d'une substance protéique, dépend de l'arrangement intra et intermoléculaire des divers amino acides. Il en résulte que l'intensité et le potentiel de réduction de l'hydrogène à la cathode à gouttes de mercure dans la solution-test de Brdicka, pourront nous révéler les particularités de structure de diverses protéines.

L'aspect et les paramètres des courbes catalytiques sont de précieux indicateurs non seulement relativement à la macrostructure des protéines mais aussi quant à leurs modifications provoquées par certains facteurs chimiques et biologiques.

L'activité polarographique de la caséine est très réduite en comparaison avec les autres protéines, fait signalé par STRIKS et KOLTHOFF [13]. Dans la *fig. 1*, sont représentées à titre de comparaison les courbes catalytiques de la caséine (tracés 2 et 3) et du sérum du même lait.

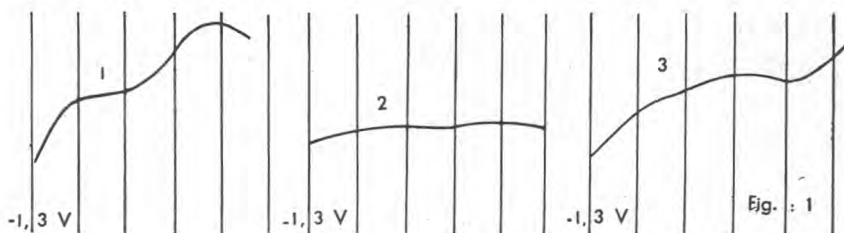


Fig. 1. — Polarogramme des protéines du lait. Tracé 1 : Protéines du sérum acétique — Concentration 0,548 mgr. %. (sensibilité 1/100). Tracé : 2 Caséine native Concentration 4,4 mgr. %. (sensibilité 1/100). Tracé 3 : Caséine native — Concentration 5, 12 mgr. %, (sensibilité 1/30).

I. La quasi inertie polarographique d'une protéine peut s'expliquer aussi par l'existence des liaisons intermoléculaires qui bloquent les protons capables de se réduire à divers potentiels. C'est pour cela que nous avons essayé séparément l'activité polarographique des trois fractions de la caséine.

Celles-ci ont été isolées à l'aide de la méthode à l'urée de HIPP et coll. [9]. L'homogénéité des fractions était vérifiée à l'aide de l'analyse électrophorétique sur papier.

Dans les *fig. 2, 3 et 4* sont représentées les courbes catalytiques obtenues avec des solutions tampon phosphate M 15 ($pH = 6,8$ de

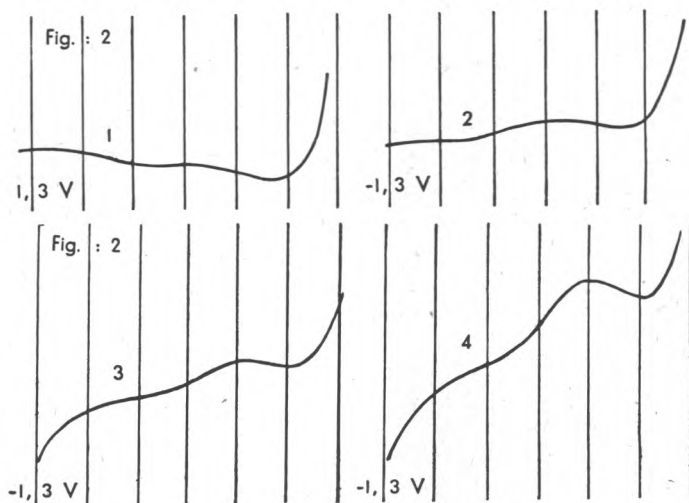


Fig. 2. — Polarogramme de l' α caséine. Tracé 1 : concentration 1,09 mgr. % — Tracé 2 : Concentration 2,18 mgr. %. — Tracé 3 : Concentration 4,36 mgr. % — Tracé 4 : Concentration 8,72 mgr. %. (Sensibilité 1/30).

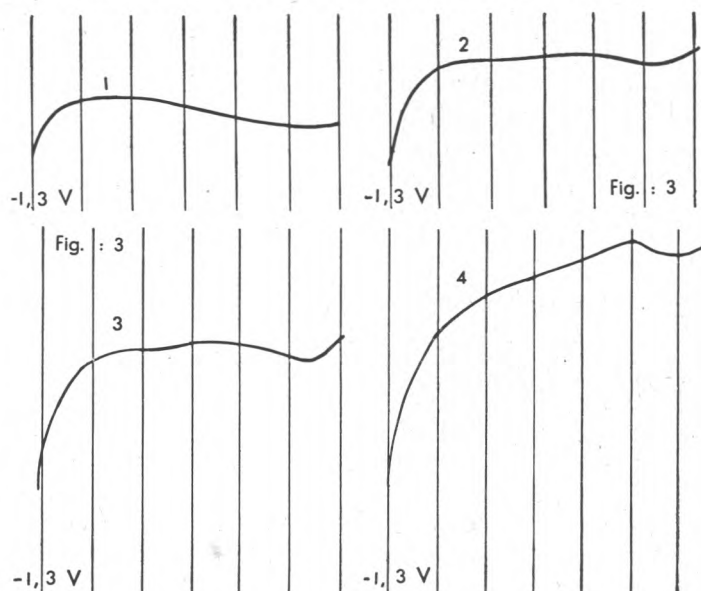


Fig. 3. — Polarogramme de β caséine. Tracé 1 : Concentration 1,57 mgr. % — Tracé 2 : Concentration 3,14 mgr. %. — Tracé 3 : Concentration 6,28 mgr. %. — Tracé 4 : Concentration 12,56 mgr. %. (Sensibilité 1/30).

caséine α , β , γ . L'aspect est le même pour les solutions alcalines ou acides, mais les paramètres polarographiques (P.I. et P.S.) sont différents.

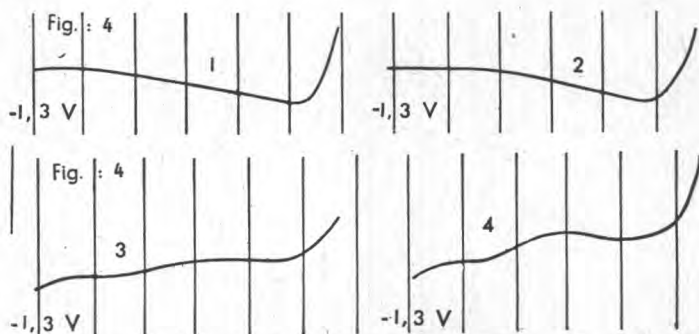


Fig. 4. — Polarogramme du γ caséine. Sensibilité 1/30. Tracé 1 : Concentration 0,906 mgr. %. — Tracé 2 : Concentration 1,81 mgr. %. Tracé 3 : Concentration 3,62 mgr. %. — Tracé 4 : Concentration 7,24 mgr. %

D'après les enregistrements obtenus, il résulte qu'il existe des différences catégoriques entre le comportement polarographique des trois variétés de caséines. La plus active est la fraction α qui présente l'aspect caractéristique des solutions protéiques habituelles. Il faut surtout souligner la présence bien accusée de la deuxième vague, spécifique, dénotant l'existence des groupements SH libres ou la liaison disulfide. Il est admis en général que la caséine native ne possède pas de groupement thiolique libre.

La β caséine montre une courbe catalytique bien différente de l' α caséine et des autres protéines en général. La première vague est très nette et sa hauteur, presque égale à la hauteur de la deuxième vague, dénote une densité égale des protons de mobilité différente.

La γ caséine présente l'activité polarographique la plus réduite des trois fractions, quantitativement comparable avec celle de la caséine native.

Les constatations faites nous permettent de supposer qu'il existe entre ces diverses fractions protéiques des relations de structure qui, en bloquant réciproquement les protons des groupements prototropiques de la caséine native, lui confèrent l'inertie polarographique bien caractéristique.

D'après la valeur des paramètres contenus dans le tableau I, on pourrait se faire une idée quant aux différences existant entre les propriétés physiques de diverses molécules de caséine.

On remarque par exemple que la γ caséine a le plus petit pouvoir de suppression, ce qui dénote que son poids moléculaire est le plus grand. Le fait est en concordance avec les déterminations faites à

TABLEAU I
LA VALEUR DES PARAMÈTRES POLAROGRAPHIQUES
DE DIVERSES FRACTIONS DE LA CASÉINE
EN SOLUTION TAMPON DE PHOSPHATES DE $pH = 6,8$

Fraction de caséine	P.I. (1) mgr. %	P.S. (2) mgr. %
Caséine native	2,12	19,30
α Caséine	1,09	40,0
β Caséine	1,57	23,3
γ Caséine	1,81	10,95

l'aide de l'ultracentrifuge. Des rapports similaires peuvent s'établir aussi entre le P. S. et la mobilité électrophoretique, viscosité intrinsèque, pouvoir rotatoire spécifique, etc., de diverses caséines.

De même, il faut souligner la valeur plus réduite du point d'inversion pour les 3 fractions de caséine en rapport avec la caséine native. Le fait peut s'expliquer par la plus grande mobilité des protons des caséines séparées, ce qui plaiderait en la faveur de notre hypothèse sur l'existence de liaisons entré les divers groupements prototropiques des caésines, ce qui bloquerait réciproquement des protons dans la caséine native.

II. En étudiant le comportement polarographique de la caséine pendant sa protéolyse à basse température (20-25°), nous avons remarqué un phénomène de réversibilité quant au potentiel de réduction de l'hydrogène à la cathode à gouttes de mercure. Nous attribuons ce phénomène de catalyse réversible à des réactions de « resynthèse » provoquées par l'action transférant de la molécule de caséine partiellement modifiée par l'action des protéases. Les protéases mêmes ne pourraient être la cause, car le phénomène ne se produit pas avec d'autres protéines (observations pas encore publiées).

Depuis NORTHROP [12], nombre d'auteurs ont signalé des irrégularités concernant la vitesse de dégradation de la caséine pendant la digestion à la trypsine. FRAZER et POWELL, [8] les attribuent à des produits inhibiteurs qui interviendront dans l'équilibre réversible qui s'établit entre les molécules de caséine dégradées et celles de caséine non dégradées. La vitesse de protéolyse, très différente pour les diverses fractions de caséine native, favorisera le déplacement de cet équilibre.

CHRISTENSEN [6] remarque aussi que pendant la protéolyse de

(1) P.I. : *point d'inversion* (d'après C. Tropp); quantité de protéine en milligrammes % pour laquelle a lieu l'inversion de l'intensité du courant, h_2/h_1 , plus petit que l'unité, des deux vagues catalytiques.

(2) P.S. : *point de suppression*, quantité de protéine en milligrammes % pour laquelle se réduit à demi la hauteur de la courbe catalytique du cobalt.

la caséine sous l'action de diverses protéases, il se produit un accroissement de la viscosité et l'opalescence de la solution suivie par une floculation caractéristique. Le phénomène est particulièrement net avec la β caséine.

Dans la *fig. 5*, nous avons représenté la variation du pouvoir de suppression des solutions d' α , β , et γ caséine, de $pH = 7,4$, soumises à l'action trypsique pendant 24 heures à la température de la chambre (23°).

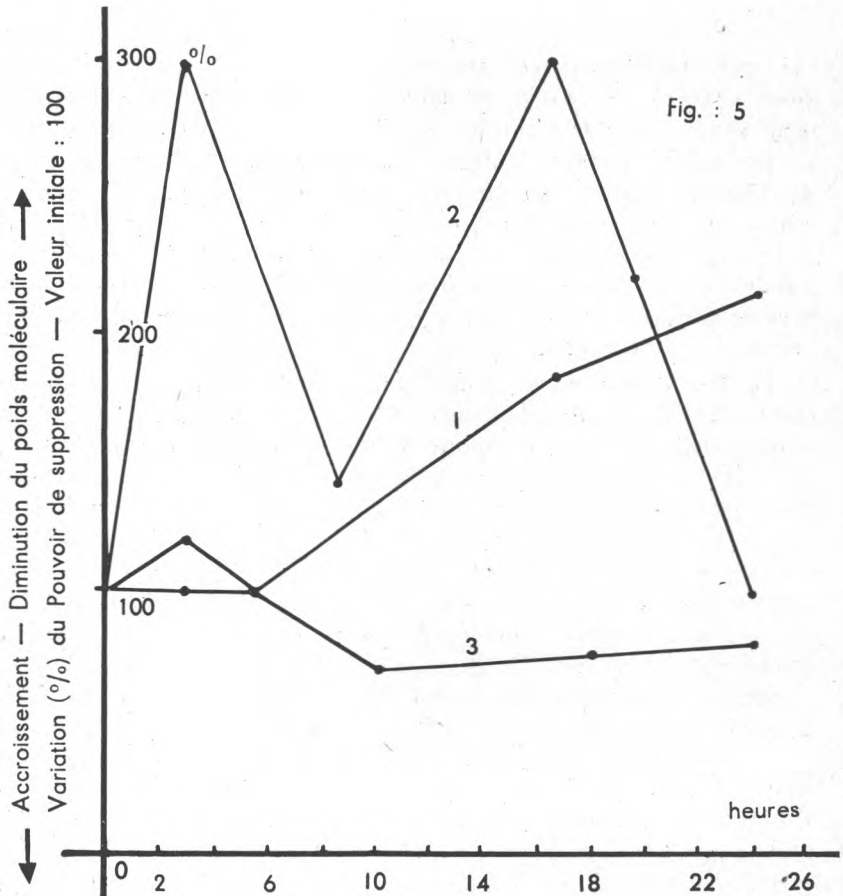


Fig. 5. — Variation du Pouvoir de suppression des solutions de caséine pendant la digestion par la trypsine. Tracé 1. α caséine. Tracé 2. β caséine. Tracé 3. γ caséine.

Comme le P. S. suit de près les variations du poids moléculaire de la substance à essayer, on est en droit de supposer qu'il s'agit d'un phénomène de « resynthèse » qui conduit à des macromolécules,

semblables à la molécule initiale de caséine, ou à tout phénomène d'organisation macromoléculaire parmi les fragments qui résultent de l'action démolissante de la protéase. On remarque que le phénomène est particulièrement net avec la β caséine ce qui coïncide bien avec les observations de Christensen, faites à l'aide d'une méthode bien différente.

Conclusion

L'analyse polarographique des fractions α , β , et γ de la caséine native du lait de vache nous a donné les résultats suivants :

1) L' α caséine est la plus active du point de vue polarographique. Elle montre beaucoup plus nettement que la caséine native, les deux vagues catalytiques dans la solution test de Brdicka.

2) Le β caséine montre une courbe catalytique d'aspect bien différent de celle de l' α caséine. Parce que la première et la deuxième vague catalytiques sont presque de hauteur égale, il résulte que le nombre des groupements prototropiques de l'ordre I et II est le même. Le fait coïncide avec la constatation que la caséine est non polaire.

3) La γ caséine est la moins active de toutes les fractions analysées. La valeur de ses paramètres est bien différente de celle des autres fractions, ce qui correspond aux propriétés physiques particulières de sa molécule.

Le comportement polarographique de la caséine native, en contraste avec les fractions qui la composent, plaide pour l'existence de liaisons de structure entre les trois variétés, liaisons qui ont pour résultat le blocage de certains groupements prototropiques, polarographiquement actifs.

4) L'analyse polarographique pendant la protéolyse de la caséine démontre la formation ou la « resynthèse » de complexes moléculaires. Ce phénomène, particulièrement net avec la β caséine pourrait expliquer en partie les irrégularités signalées par les divers auteurs pendant la digestion trypsique. Il serait dû à l'action transférant de la caséine même, modifiée à la suite de l'action protéasique.

(Laboratoire de Biochimie de la Faculté de Médecine Vétérinaire et Laboratoire de physique générale de l'Institut polytechnique. Bucarest, Roumanie.)

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BURUIANA L. M. et V. PAVLU. *Revue de Chimie*, Académie de R.P.R. 1957, **11**, n° 2, 213.
[2] BURUIANA L. M. et V. PAVLU. *Le Lait*. 1957, **37**, n° 369-370-601.

- [3] BURUIANA L. M. et V. PAVLU. *Naturwiss.* 1957, **22**, 589.
 [4] BURUIANA L. M. et V. PAVLU. *Naturwiss.* 1958, **6**, 132.
 [5] BURUIANA L. M. et V. PAVLU. *Studii si Cercetari de Chimie, Acad. R.P.R.* 1958, Anul VI. N° 1, 139.
 [6] CHRIS ENSEN L. R. *Arch. Biochim. Biophys.* 1954, **53**, 128.
 [7] DANILEWSKY A. I. et RADENHAUSEN. *Forschung. a. d. Gebiete d. Viehhalt.* 1885, **2**, 1.
 [8] FRAZER D et R. E. POWELL. *J. of Biol. Cjem.* 1950, **187**, 203.
 [9] HIPPI. N. I., M. L. GROVES, I. H. CUSTER et T. L. Mc. MEEKIN. *J. of Dairy Sci.* 1952, **35**, n° 3, 272.
 [10] LINDERSTRÖM-LANG K. et S. KODAMA. *Compt. rend. trav. Lab. Carlsberg Ser. Chim.* 1925, **1**, 16.
 [11] MELLANDER. *O. Biochem. Z* 1939, **300**, 240.
 [12] NORTHROP J. H. *J. Gen. Physiol.* 1933, **16**, 339.
 [13] STRIKS W. et I. M. KOLTHOFF. *Sbornik Mezinaroniho. Polarographi-cenho Sjezdu v Praze.* 1st Congress, 1951, 386.

**DE LA DESTRUCTION DES BACTÉRIES
 PAR LA CHALEUR
 ETUDE DE L'EFFICACITÉ
 DE LA PASTEURISATION DU LAIT**

par

A. NEVOT, Ph. LAFONT et J. LAFONT

Comme suite à la présentation de notre monographie sur la thermo-résistance des germes pathogènes dans le lait (séance de l'Académie du 27 janvier) (1), j'ai l'honneur de vous exposer nos protocoles expérimentaux et les résultats obtenus.

Notre travail comporte d'abord une étude faite, au laboratoire, sur la sensibilité à la chaleur des bactéries pathogènes ou commensales pouvant contaminer le lait, puis une étude effectuée en utilisant, pour le traitement thermique de laits artificiellement pollués, une installation expérimentale de pasteurisation comparable, quant à son principe de fonctionnement, aux appareils industriels de type H.T.S.T. La pasteurisation H.T.S.T. (High Temperature Short Time), la plus répandue dans les pays évolués, consiste en un chauffage du lait, en couche mince et en courant continu, à 71°-72°, pendant au moins quinze secondes.

I. — Etude de la sensibilité à la chaleur des bactéries pathogènes ou commensales pouvant contaminer le lait

Au laboratoire nous avons adopté le protocole expérimental suivant :

C.R. Acad. Méd. 1959, **143**, 175.

(1) *Le Lait*, 1959, **39**, 170