

posé, la qualité bactériologique du lait produit par le lot E fut moins bonne en novembre que celle du lot T.

On sait aussi que la qualité d'un fromage dépend beaucoup de la technique mise en œuvre par le fromager. Un changement de fromager, intervenu le 1<sup>er</sup> janvier 1958, a pu exercer à cet égard une certaine influence. On a noté par la suite, en février et mars, une amélioration de la qualité des fromages. L'expérience que deux d'entre nous (F. F. et G. M.) possèdent de nombreux essais antérieurs montre qu'il est difficile, dans les conditions pratiques du travail en fromagerie, d'éviter les causes de variations et d'obtenir une fabrication possédant une qualité constante.

Au point de vue de la production laitière, les différences entre chaque période expérimentale sont nulles et le type d'alimentation n'exerça pas d'influence appréciable sur la composition des laits.

En conclusion, les éventuelles répercussions dues à la distribution d'aliments composés mélassés ou non paraissent moins importantes que les causes de variations de la qualité des fromages s'exerçant habituellement dans un chalet de fromagerie du Jura ou que celles se faisant sentir au niveau de l'étable.

*(Station de Recherches laitières et Ecole d'Industrie laitière de Poligny, Laboratoire d'Alimentation de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Laboratoire du Service Vétérinaire de la Seine.)*

---

## RECHERCHE DES ALGINATES DANS LES PRODUITS LAITIERS (1)

*(Note de laboratoire)*

par JEAN PIEN

La recherche des épaississants ou gélifiants organiques dans les denrées alimentaires en général et dans les produits laitiers en particulier présente de sérieuses difficultés, non seulement dans l'extraction et la purification de ces substances en présence d'un grand excès de matières protéiques, mais encore parce qu'on ne dispose guère de réactions spécifiques permettant l'identification de ces substances.

Au cours de ces dernières années, cependant, a été proposée la mise en évidence globale de tous les épaississants organiques de structure glucidique par la réaction de l'antrone (ou hydroxy-dihydro-anthracène, obtenu par réduction de l'antraquinone).

(1) *Annales Fals. et Fraudes*, 1959, 52, 197.

Cette réaction a fait l'objet de plusieurs travaux dont la bibliographie est donnée dans l'étude de FOUASSIN qui nous semble être la plus récente [1]. En milieu sulfurique au bain-marie bouillant, l'anthrone donne une coloration verte plus ou moins intense (tirant sur le bleu ou sur le jaune suivant les épaississants), avec les alginate, les carraghénates, les méthylcelluloses, les carboxyméthylcelluloses, l'amidon, la pectine et diverses gommés (caroube, etc.). Il va de soi que la recherche de ces épaississants dans les denrées alimentaires implique leur isolement préalable à l'état pur.

### Mode opératoire (extrait du mémoire de Fouassin)

Traiter 20 grammes de lait (ou 10 grammes de crème, fromage...) par 20 millilitres (ou 30 ml.) de réactif de LUFF-SCHOORL (préparation : une solution de 50 gr. d'acide citrique dans 50 ml. d'eau est versée dans une solution de 388 gr. de  $\text{CO}_2 \text{Na}_2$  crist. dans 400 ml. d'eau chaude ; ajouter 25 gr. de  $\text{CuSO}_4$  préalablement dissous dans 100 ml. d'eau ; agiter, compléter à un litre). Ajouter peu à peu 10 millilitres (ou 15 ml.) d'acide acétique glacial. Dans ce mélange, les protéines coagulent tandis que les alginate et autres épaississants restent en solution. Après repos de quelques minutes, filtrer sur filtre mouillé. Ajouter au filtrat (qui peut, sans inconvénient, ne pas être limpide) un égal volume de HCl concentré et un volume double d'alcool à 95°. Mélanger, laisser reposer un quart d'heure dans un bain d'eau froide. Les alginate, les carraghénates, les C.M.C., la pectine, la gomme de caroube, une partie de l'empois d'amidon précipitent en même temps que des sels minéraux. Centrifuger 2 à 3 minutes à 2.000 T/M. Eliminer le liquide surnageant. Délayer le dépôt dans de l'alcool à 50° G.L. qui dissout seulement les matières minérales. Centrifuger, éliminer le liquide, rincer le dépôt deux fois par l'alcool à 95° et par l'éther sulfurique. Eliminer l'éther par courant d'air chaud. Le dépôt, constitué par le ou les épaississants à l'état pur, est délayé dans 1 à 2 millilitres de  $\text{H}_2 \text{SO}_4$  à 60% en volume, et additionné de 0 ml. 2 d'anthrone à 2% dans l'acétate d'éthyle. Porter au B.M. bouillant pendant 5 minutes. La solution se colore en vert ou vert-bleu avec les alginate, les carraghénates, les C.M.C., la pectine, l'empois d'amidon, la gomme de caroube.

Les réactions sont extrêmement nettes avec quelques milligrammes d'épaississement dans la prise d'essai. En l'absence d'épaississant, il ne subsiste pas de dépôt après le lavage à l'alcool à 50°, ou bien, s'il existe un dépôt exempt d'épaississant, la coloration reste jaune comme dans le cas d'un témoin.

Nous avons remarqué que la réaction de l'anthrone effectuée sur du glucose pur conduit à une belle coloration vert-bleu. Cette observation confirme que la réaction de l'anthrone est liée à la structure glucidique de tous ces épaississants.

### Remarques

1° Le travail de FOUASSIN montre également comment on peut, à partir du dépôt final obtenu précédemment, identifier les épaississants par des dissolutions et précipitations systématiques, la réaction ultime du ou des précipités éventuels étant toujours celle de l'anthrone ;

2° Les méthylcelluloses n'étant pas précipitées dans la méthode décrite ci-dessus, l'auteur indique une technique de défécation trichloracétique, suivie d'un chauffage du filtrat à 100° où l'apparition d'un trouble (disparaissant à 20°) révèle la présence des M.C. Nous renvoyons au travail original pour le détail de cette technique.

\* \* \*

On peut faire à la méthode précédente le reproche de manquer de spécificité puisque tous les épaississants de nature glucidique sont mis en évidence par une réaction commune.

C'est pourquoi — pour ce qui est de la recherche des alginates dans les produits laitiers — nous lui préférons une autre méthode due à RACICOT et FERGUSON (1938) [2] reprise depuis par SCHROEDER et RACICOT (1941) [3] puis par BUNDESEN et MARTINEK (1954) [4], qui a le mérite d'être spécifique de ces substances et dont le principe est le suivant : après avoir séparé l'alginate par traitements acide et alcalin suivis de centrifugations et de lavages à l'alcool, le résidu d'alginate pur est traité par un réactif spécial constitué par de l'acide sulfurique saturé d'oxyde ferrique. Il se développe alors une coloration rose ou rouge. L'intensité de cette coloration et la rapidité de son apparition sont proportionnelles à la quantité d'alginates présents. Le très grand intérêt de cette réaction est sa sensibilité (on peut déceler moins de 0,1% d'alginate dans les produits laitiers) et surtout sa spécificité : alors qu'avec les alginates (quelques milligrammes) on obtient en trente minutes à froid une coloration rose-violacé et, en quelques heures, violet-pourpre, aucun résultat semblable n'est constaté avec les carraghénates, la pectine, la méthylcellulose qui ne donnent qu'une coloration jaune clair. L'amidon et le glucose donnent également cette coloration jaune clair, mais qui tire sur le rose au bout de quelques heures.

Il semble donc possible d'affirmer que, dans le cas des alginates seuls, la réaction est très nette, sans ambiguïté et l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'épaississant.

Le mode opératoire préconisé par SCHROEDER et RACICOT pour l'extraction et la purification de l'alginate ne nous a pas donné d'aussi bons résultats que la méthode de FOUASSIN décrite plus haut. En revanche, l'identification de ce produit nous paraît devoir être réalisée à l'aide du réactif spécial à l'oxyde ferrique en solution sulfurique, beaucoup plus spécifique que l'anthrone. Nous ne décrivons donc pas la technique d'extraction employée par ces auteurs, mais seulement le mode de préparation de leur réactif.

### Préparation du réactif sulfurique spécial

Précipiter de l'hydrate ferrique d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  avec l'ammoniaque, laver à fond le précipité jusqu'à neutralité, le filtrer, l'essorer, le sécher en faible épaisseur au B.M. bouillant puis à l'étuve à  $100^\circ$ , le broyer finement au mortier et le mélanger à un excès d'acide sulfurique concentré de manière à obtenir une bouillie très fluide (60 ml. d'acide sulfurique pour 10 gr. d'oxyde ferrique sec). Maintenir en contact à la température ordinaire pendant trois ou quatre jours au moins, en agitant plusieurs fois par jour. Laisser reposer jusqu'à clarification spontanée de l'acide, ce qui demande plusieurs jours ou bien séparer le sulfate ferrique formé par filtration sur Schott n° 4 en s'aidant d'un bon vide. La filtration est lente mais permet d'obtenir un réactif limpide et presque incolore (légèrement ambré).

### Exécution de la réaction et interprétation

Le culot de centrifugation obtenu, constitué par de l'alginate pur, est dissous dans 0 ml. 15 de  $\text{NaOH}$  N/10. Ajouter un millilitre du réactif précédent, agiter jusqu'à dissolution de l'acide alginique libéré et abandonner à la température ordinaire.

En présence de quantités importantes d'alginate dans la prise d'essai (par ex. 10 mgr.) la coloration rose apparaît très rapidement et vire au rouge violet. Avec un milligramme d'alginate, la coloration rose n'apparaît qu'en 10 ou 20 minutes. En présence de quelques dixièmes de milligrammes, il faut attendre plusieurs heures pour constater une réaction positive; parfois même, elle n'apparaît que le lendemain. Dans tous les cas, la coloration rose obtenue vire toujours au rouge-violet avec le temps.

### Remarques

1° L'acide sulfurique à employer pour la préparation du réactif ci-dessus, doit être d'une très grande pureté.

2° Un réactif très ancien (un an par ex.) ne permet plus d'obtenir la réaction caractéristique des alginates.

\* \* \*

### En résumé

L'étude de ces diverses techniques nous permet de penser qu'un excellent moyen de mettre en évidence la présence d'alginates dans les produits laitiers, consiste :

1° A isoler et à purifier l'épaississant en utilisant la technique décrite par Fouassin et reproduite au début de cette note.

2° A identifier les alginates dans l'épaississant ainsi séparé, par le réactif à l'oxyde ferrique en solution sulfurique dont la préparation a été indiquée ci-dessus.

Il va de soi que, sur une autre prise d'essai, la réaction de l'anthrone, également décrite, permet d'obtenir une confirmation qualitative de la présence de cet épaississant de structure glucidique.

### BIBLIOGRAPHIE

- [1] FOUASSIN A. *Rev. ferment. ind. alim.*, 1957, **4**, 169.
- [2] RACICOT et FERGUSON. *J. Ass. off. agric. chem.* 1938, **21**, 110.
- [3] SCHROEDER et RACICOT. *Ind. and. Ingen. chem.*, 1941, **13**, 165.
- [4] BUNDESEN et MARTINEK. *J. milk. food. Techn.*, 1954, **17**, 79 et 105.

## LE PROBLÈME DU LAIT HYGIÉNIQUE (1)

par G. THIEULIN

Agrégé des Ecoles Vétérinaires

Membre du Conseil Supérieur d'Hygiène publique

D'autres que nous, plus qualifiés, ont dit ou vont dire, au cours de ce colloque, la valeur de l'aliment exceptionnel qu'est le lait, mais aussi nos exigences devant les dangers qu'il peut, s'il est souillé, représenter.

(1) Résumé d'une Conférence prononcée le 20 mai 1959, au Colloque International de Diététique sur le lait et ses dérivés. (Paris, Faculté de Médecine.)