

a) The cows and ewes whose milk was used in the preparation of the Kashkaval had been fed with silos green fodder from the 1960 production.

This silo fodder was of an inferior quality.

b) The milkers were at the same time the care-takers of the milk producing animals.

A laboratory examen made on cheese samples taken from cheese with accentuated swelling showed that the cheese contained, an average of 44,36 per cent water and 3,47 per cent salt. The pH of two cheese-tests was 5,5 and 5,7.

The microorganism that caused the tardy swelling has been isolated.

The best culture medium was proved to be a mixture of Tarozi broth and a hydrolized milk broth with glucose 3-5 per cent.

According to its morphological, cultural and biochemical characteristics, this microorganism is the *Clostridium tyrobutyricum*.

SUPPLEMENT TECHNIQUE

L'INSOLUBILISATION DE LA CASÉINE PAR L'AMIDON DIALDÉHYDIQUE

par

G. GÉNIN

Ingénieur E.P.C.I.

L'influence des aldéhydes et en particulier du formaldéhyde sur les dispersions aqueuses de protéines est une réaction bien connue, qui a fait l'objet de nombreuses recherches tant sur le plan scientifique que sur le plan technique [1], étant donné le rôle qu'elle joue dans de nombreuses applications de la caséine : fabrication d'objets moulés, de fibres ou de crins, de peintures, etc. Plus récemment, on a étudié également l'action des dialdéhydes de bas poids moléculaire, comme le glyoxal et le glutaraldéhyde [2], ces produits ayant trouvé, par suite de leur action sur les protéines des peaux animales, des applications dans le tannage du cuir.

Or, depuis peu, la fabrication industrielle de l'amidon dialdéhydrique a été entreprise par oxydation de l'amidon par l'acide périodique et les réactions de ce produit avec certaines protéines

telles que collagène (dans le tannage du cuir) et la gélatine ont été examinées [3]. Par contre, l'étude des réactions avec d'autres protéines comme la caséine n'avait pas encore été envisagée.

Or, la structure particulière de l'amidon dialdéhydiq ue, sa nature solide, son poids moléculaire élevé, sa très faible toxicité, sont des caractéristiques favorables qui justifient l'intérêt de ce produit dans la préparation, par réaction avec la caséine, de produits résistant à l'eau, pouvant être utilisé pour le couchage du papier par exemple.

Les réactions des agents bi-fonctionnels avec les protéines font généralement intervenir des liaisons intra et intermoléculaires. Par exemple, avec l'amidon dialdéhydiq ue, on peut penser qu'il doit se produire une réaction entre ses groupes carbonyles et les groupes aminés de la caséine conduisant à la formation de polymères dont les propriétés doivent être très différentes de celles des produits de départ. En outre, la nature polymérisée de l'amidon dialdéhydiq ue doit introduire un facteur nouveau dans sa réaction avec les protéines, susceptible de jouer un rôle important dans les applications industrielles de ces produits.

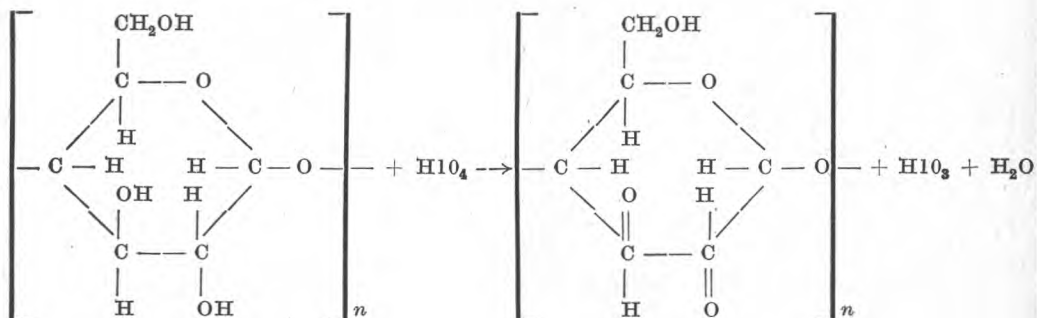
C'est la raison pour laquelle F. B. WEAKLEY, C. L. MEHLTRETTER et C. E. RIST ont entrepris [4] une série d'investigations sur l'insolubilisation de la caséine par réaction avec des dispersions d'amidon dialdéhydiq ue, avec comme but, la préparation de produits pouvant servir au couchage du papier, dont les conclusions ont été présentées à l'occasion du 46^e Congrès annuel de la Technical Association of the Pulp and Paper Industry, New-York, 20-23 février 1961.

Préparation de l'amidon dialdéhydiq ue

H. BEDUNEAU [5] a publié récemment une intéressante étude sur la préparation et les emplois de l'amidon dialdéhydiq ue. Le procédé électrolytique de préparation industrielle de ce produit [6] consiste à opérer dans une cellule comportant un diaphragme pour séparer le catholyte de l'anolyte. Le compartiment cathodique contient une solution à 5 p. 100 de NaOH et une baguette d'acier comme cathode. On utilise comme anode, une feuille de plomb placée dans une solution aqueuse d'acide iodique contenant du sulfate de sodium. On verse également dans cette solution l'amidon dont on veut effectuer l'oxydation.

Sous l'influence du passage du courant, l'acide iodique est transformé en acide périodique qui oxyde l'amidon et l'acide iodique formé est simultanément transformé en acide périodique.

L'amidon dialdéhyde dont on peut représenter la réaction de préparation par la formule suivante :



peut être considéré comme un amidon oxydé. Il est vendu dans le commerce sous la marque Sumstar dont il existe une qualité particulière, le Sumstar 190, plus spécialement destinée à l'industrie du papier.

Cet amidon oxydé est semblable, lorsqu'on l'examine au microscope, à l'amidon non oxydé, si ce n'est qu'il ne présente pas le phénomène de biréfringence. Il est insoluble dans l'eau froide, mais se dissout dans l'eau chaude. Il forme un précipité amorphe avec la phénylhydrazine à 25° C, il n'est pas hydrolysé par la diastase du malt et donne une réaction négative avec le réactif de Wagner (solution d'iode dans l'iodure de potassium), mais positive avec la liqueur de Fehling. Il fournit par évaporation d'une couche mince de sa solution, une pellicule transparente.

Etude de la combinaison de la caséine et de l'amidon dialdéhyde

Dans leur étude, WEAKLEY et ses collaborateurs ont opéré sur un amidon oxydé à 95 p. 100 de la théorie, qui a été complètement dispersé dans l'eau à la concentration de 10 p. 100 par addition de 10 p. 100 de son poids sec de borax et chauffage à 75° avec agitation.

La caséine utilisée était un produit purifié à haute teneur en azote, dispersé dans l'eau par agitation, puis par addition de 10 p. 100 de borax par rapport au poids sec de caséine et agitation à la température ordinaire.

On a alors étudié la combinaison de ces deux réactifs, en opérant en général à 25°, en faisant varier le pH et la concentration du réactif.

Formation du complexe

La quantité maximale d'amidon dialdéhydiqque qui se combine à la caséine a été déterminée en faisant réagir la dispersion à un pH de 7,1 et à 25°, mais en étudiant l'influence de la concentration et de la proportion des deux réactifs. On obtient ainsi un complexe dont la composition varie suivant les conditions expérimentales et par exemple, le produit obtenu en partant d'une dispersion à 7 p. 100 de caséine par réaction avec une dispersion à 0,7 p. 100 d'amidon dialdéhydiqque (rapport 10/1) pendant deux heures à un pH de 7,1 est constitué de 90 p. 100 de caséine et de 10 p. 100 du composé d'amidon.

Par contre, si on opère sur un mélange dans le rapport 20/1, le produit obtenu est contaminé par la présence d'une forte proportion de caséine non combinée. En opérant au contraire avec de plus faibles proportions de caséine, on constate que la proportion la plus élevée d'amidon dialdéhydiqque qu'on peut combiner à la caséine est de 25 g de ce produit pour 100 g de caséine.

Le produit ainsi obtenu est pratiquement insoluble dans les acides alcalis dilués et diffère ainsi complètement des constituants pris isolément. Le tableau ci-dessous donne la composition de quelques complexes en fonction des conditions opératoires :

Rapport en poids amidon/caséine	Concentration de la caséine	Durée de la réaction, (h)	Rendement en complexe (%)	Composition du complexe en p. cent	
				Amidon dialdéhydiqque	Caséine
6/1	0,8	3	95	20	80
1/1	0,8	1	95	15	85
1/10	7,0	2	90	10	90

Influence du pH sur la viscosité du complexe

Une importante propriété de la caséine dans les produits de couchage résistant à l'eau est le comportement de la viscosité des dispersions aqueuses en présence d'agents insolubilisants. L'apparition d'une viscosité importante résulte de la réactivité du groupe fonctionnel des protéines avec les agents de réticulation et elle est notablement influencée par le pH du milieu dans lequel se fait la réaction.

Une augmentation du pH entraîne une augmentation des

quantités de groupes aminés inchangés dans la protéine qui peuvent ainsi réagir avec la fonction dialdéhyde de l'amidon dialdéhydrique. Cependant l'augmentation de l'alcalinité que l'on peut réaliser se trouve limitée par les risques de dégradation de l'amidon dialdéhydrique dans un milieu à pH élevé.

C'est pour cette raison que WEAKLEY a étudié la réaction dans un milieu dont le pH ne dépassait pas 8. Dans ces conditions, on constate qu'une dispersion à 7 p. 100 du complexe contient 1 partie de DAS (amidon dialdéhydrique) pour 10 de caséine, a une viscosité qui augmente régulièrement lorsque le pH passe de 6,8 à 8. La solution de caséine était préparée en trempant 7 g de caséine sèche dans 93 cm³ d'eau, en ajoutant 0,7 g de borax et en agitant pendant 30 minutes, ce qui fournissait une dispersion de caséine ayant un pH de 7,3. La dispersion de DAS était préparée en ajoutant 5 g de ce produit sec à 45 cm³ d'eau contenant 0,5 g de borax, en agitant, puis en chauffant à 73° C pendant 10 à 20 minutes (pH environ 6). Après un refroidissement rapide à la température ordinaire, la dispersion de DAS était diluée par addition d'eau à un volume de 50 cm³.

On ajoutait alors 7 cm³ de cette solution à la dispersion de caséine et on agitait de façon à obtenir un mélange homogène dont on réglait immédiatement le pH à la valeur désirée par addition d'une petite quantité d'acide ou d'alcali.

En milieu alcalin, la réaction s'effectue rapidement et s'accompagne d'une diminution initiale de l'alcalinité de 0,5 à 0,8 unité de pH et on ajoute alors un peu d'alcali pour rétablir le pH initial. Lorsque la réaction est effectuée sans réglage de pH initial, la vitesse de la réaction diminue en proportion de l'augmentation de l'acidité.

On sait que les préparations à base de caséine destinées à l'industrie du papier doivent présenter une bonne stabilité pendant un temps raisonnable pour permettre d'exécuter les diverses opérations. On peut alors parvenir à obtenir cette stabilité de la viscosité d'un mélange pour couchage, en agissant sur le pH .

Pour un pH de 6,8, ce n'est qu'au bout de 4 heures qu'on obtient une variation appréciable de la viscosité. En opérant dans un milieu de plus forte acidité (pH 6,5), cette durée de conservation de la stabilité de la viscosité est augmentée jusqu'à 24 heures. On peut donc procéder au couchage du papier avec le mélange n'ayant pas encore réagi de faible pH et présentant la viscosité désirée. On fait agir alors des réactifs alcalins, et l'insolubilisation du film de caséine peut être réalisée rapidement.

Influence de la concentration sur la viscosité

Dans l'utilisation des dispersions de caséine et d'amidon dialdéhyde préparées dans des conditions optimales de pH , on constate que si l'on veut conserver une bonne stabilité de la fluidité, la concentration de la caséine dans de telles dispersions est un facteur qu'il ne faut pas négliger.

Pratiquement, si l'on veut obtenir une dispersion dont la viscosité rende le produit utilisable, on est limité à une concentration maximale de caséine d'environ 9 p. 100 pour un pH initial de 6,5, lorsque le rapport amidon dialdéhyde/caséine est de 1/10. Si on élève la concentration de caséine à 10 p. 100, la prise en gelée se produit en 4 heures et avec une concentration de 12 p. 100 le phénomène se produit en 30 minutes, le pH final du mélange s'établissant entre 5,8 et 6,2. Un pH plus élevé augmente considérablement la vitesse de réaction et provoque une prise en gelée presque immédiat du mélange DAS/caséine d'une composition 1/10.

On observe également une élévation considérable de la viscosité d'un mélange de 1 partie de DAS pour 20 de caséine contenant 10 p. 100 de caséine en suspension pour un pH de 7,2. Cependant, on parvient à régler la viscosité par une réduction de la valeur du pH à 6,5.

On peut donc tirer des essais qui précèdent les conclusions suivantes : il est possible de faire réagir l'amidon dialdéhyde avec la caséine en opérant sur des dispersions aqueuses de ces deux produits, en opérant dans des conditions variables de pH et de concentration, de façon à obtenir des complexes présentant une insolubilité irréversible dans l'eau.

La proportion maximale d'amidon dialdéhyde que l'on peut combiner à la caséine est de 25 parties du premier de ces produits à 100 g de caséine. Cependant, on peut parvenir à une insolubilisation quantitative de la caséine avec seulement 1 partie de DAS pour 10 de caséine. L'emploi de tels mélanges devrait permettre de préparer des produits pour le couchage du papier présentant une résistance considérablement améliorée à l'action de l'eau.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] A. P. SWAIN, E. L. KOKES, N. J. HIPPI, L. JOHN et R. W. JACKSON, *Ind. Eng. Chem.*, 1948, t. 40, p. 465.
J. F. BOHMFALK, R. W. MCNAMEE et R. P. BARY, *Ind. Eng. Chem.*, 1951, t. 43, p. 786.
- [2] E. SUTERMEISTER et F. L. BROWNE, « Casein and its fundamental applications », 2 éd., p. 200. Editeur : Reinhold Publ. Corp., New-York, 1939.

- J. POURADIER et A. M. VENET, « Recent advances in gelatin and glue research », p. 236. Pergamon Press, éditeur, New-York, 1958.
- [3] M. L. FEIN et E. M. FILACHIONE. *J. Am. Leather Chemists Assoc.*, 1957, t. 52, p. 17.
- E. M. FILACHIONE, E. H. HARRIS, J. NAGHSKI et P. WELLS. *J. Am. Leather Chemists Assoc.*, 1958, t. 53, p. 77.
- C. W. BEEBE, M. L. HÄPPICH, J. NAGHSKI et W. WINDUS. *J. Am. Leather Chemists Assoc.*, 1959, t. 54, p. 628.
- A. M. KRAGK, *Bull. Brit. Gelatine and Glue Res. Assoc.*, août 1958, t. 2, n° 3, p. 15.
- [4] F. B. WEAKLEY, C. L. MEHLTRETTER et C. E. RIST, *Tappi*, 1961, t. 44, p. 456.
- [5] H. BEDUNEAU, *Rev. Prod. Chim.*, 1961, t. 64, p. 593.
- [6] W. DVONCH et C. L. MEHLTRETTER. *J. Am. Chem. Soc.*, 1952, t. 74, p. 5522. — Br. am. 2 648 629 du 11 août 1953 et 2 713 553 du 19 juillet 1955.
- C. L. MEHLTRETTER, J. C. RANKIN et P. R. WATSON, *Ind. Eng. Chem.*, 1957, t. 49, p. 350.
- H. F. CONWAY et V. E. SOHNS. *Ind. Eng. Chem.*, 1959, t. 51, p. 637.

Bulletin analytique

(Revues)

Colles et peintures

Belohradsky (F.), Blazek (L.), Kulhanek (M.) et Navratil (V.). —

Caséine modifiée pour le vernissage du cuir. *Kozarstvi*, t. 8, p. 361. 1958.

On a préparé de la caséine modifiée par le procédé d'hétéropolymérisation décrit par *Wagner-Jauregg* en utilisant des composés de vinyle. Il est possible d'utiliser des proportions différentes de caséine et de dérivés vinyliques, mais il faut utiliser un mélange convenable au point de vue teneur en caséine pour que le produit soit durcissable par le formaldéhyde.

Les films obtenus par séchage de ces produits sont souples et conviennent en particulier pour la première couche de vernis déposée sur le cuir. La caséine ainsi modifiée peut remplacer 50 p. 100 des dispersions de résines normalement utilisées.

G. Génin.