

## FRACTION ÉLECTROPHORÉTIQUE EN POSITION PRE-BETA DANS LE SÉRUM DU LAIT CHAUFFÉ A HAUTE TEMPÉRATURE

### 1. Le sérum emprésuré du lait UHT

par

Bernardo MAIDA

*Chef du service bactériologique de la Centrale du lait de Rome*  
(Directeur : Dr. Fausto Bonetti.)

Au cours des contrôles habituels sur la composition protéique du lait après traitement thermique, on a exécuté l'électrophorèse sur papier du sérum de lait emprésurer, ainsi que du sérum obtenu avec acidification habituelle à pH 4.6.

De cette façon, j'ai pu observer la fréquente apparition d'une bande, parfois d'une remarquable intensité, clairement différenciée par rapport aux autres fractions déjà connues. Elle a été observée dans le lait entier, dans le lait avec 1.8 et avec 0.5 p. 100 de matière grasse, soumis au traitement UHT, tandis que dans le lait cru ou pasteurisé et dans les échantillons de lait stérilisé examinés jusqu'ici on ne la voit jamais. Cette bande-ci apparaît seulement dans les sérums de lait emprésuré et n'est pas apparue jusqu'à présent, dans les communs sérums acides obtenus à pH 4.6.

On trouvera expliquées, dans cette note, les caractéristiques les plus élémentaires du phénomène. On appellera provisoirement « pre-bêta » la fraction observée.

### Matériels et méthodes

Le lait examiné a été fourni par plusieurs Centrales : le lait stérilisé venait de Lodi, Munich en Bavière et Milan ; celui upérisé (UHT-Alpura) de Brescia et Novare ; le lait UHT Sordi de Locate Triulzi. Le lait cru et pasteurisé (à 78° C—16'' avec des appareils Alfa Laval) a été prélevé auprès de la Centrale municipale de Rome.

Les examens ont été faits avec du lait conservé selon les différentes modalités dont on donnera des détails dans le courant de ce travail. En tous cas on a examiné des échantillons avec des caractéristiques biologiques, chimiques, et organoleptiques parfaitement normales. On a utilisé de la présure du commerce (présure Frau et Sordi, liquide) ayant une force déclarée de 1/10.000 ; dans

nos recherches on l'a employée sauf dans les circonstances dont on parlera ci-après, à la concentration finale de 1 : 1 000-1 : 2 000 (0.5-1 p. 1000). La durée de l'action enzymatique a été plutôt longue à cause de la coagulabilité réduite des laits très chauffés : au moins 3 heures à 37° C dans le cas des laits upérisés, 24 heures, environ, dans le cas des laits stérilisés.

L'acidification a été généralement obtenue avec Cl 0.1 N. On a utilisé aussi l'acide acétique 10 p. 100, et l'acide oxalique 20 p. 100.

L'électrophorèse a été faite à 80-100 volts pendant 18-20 heures sur Whatman 3 MM, avec un tampon barbiturique à pH 8,6 et la force ionique 0.1. On a aussi employé des temps, des tensions, et des types différents de papier, en obtenant des résultats pratiquement identiques. La coloration a été obtenue avec le noir amido.

Le sérum, préférablement, doit être utilisé par lyophilisation ou concentration obtenue en précipitant les protéines avec l'acétone à froid.

La quantité des séro-protéines déposées pour la migration a été d'environ 2-4 mg. Le contenu protéique du sérum a été dosé avec la réaction du biuret.

### Résultats

Généralement, le sommet de la fraction pré-bêta se trouve à 3-4 cm. environ devant celui de la  $\beta$ -lactoglobuline. La longueur moyenne des migrations a été de 14 cm du dépôt à l'extrémité anodique de la fraction pré-bêta (fig. 1).

La fraction pré-bêta ne paraît pas constamment : dans le stock de lait U H T dans laquelle elle a paru plus fréquemment, nous l'avons trouvée dans 11 échantillons sur 16.

On devra rechercher les facteurs qui déterminent l'apparition de la bande. Cependant, à l'état actuel des études, on a déjà observé que l'acidification du sérum de lait emprésuré est un facteur qui fait apparaître la fraction avec une plus grande régularité.

On a jugé devoir résoudre une question préliminaire, c'est-à-dire si l'on devait considérer la bande rapide comme une protéine du sérum ou bien comme une fraction de la caséine. Cela en supposant que le traitement thermique permette à la présure de provoquer la séparation et la solubilisation des fractions caséiniques (voir Alais et Jolles [1]), fractions que l'on trouverait dans le sérum et dans le tracé électrophorétique, après avoir laissé le complexe agrégation caséinique.

Une telle hypothèse n'a pas été confirmée comme le démontre la suivante recherche : par acidification à pH 4.6 on a séparé toute la caséine d'un lait upérisé. Si l'on traite avec la présure le restant du sérum acide, on obtient l'apparition de la bande pré-bêta, comme quand on fait le caillage direct du lait.



Fig. 1. — Aspect de la fraction pré-bêta dans le sérum de lait U H T emprésuré.

Donc le phénomène concerne les protéines du sérum du lait et apparaît lié à deux facteurs essentiels : le type du traitement thermique et l'action enzymatique.

1) *Influence de la concentration et du temps d'action de la présure* : à un échantillon de sérum, obtenu par acidification à  $pH$  4.6 on a ajouté une certaine quantité de présure. On a obtenu l'apparition évidente de la fraction pré-bêta lorsque la concentration finale de l'enzyme a été de 0.5 p. 1000 et son temps d'action de 90' à 37° (fig. 2).

Si l'on augmente le temps, le résultat ne change pas ; si on le diminue on a remarqué que la durée minimum d'action de l'enzyme ne pouvait être inférieure à 15' à 37° C : dans ces conditions on a obtenu une bande à peine visible.

Avec une concentration de présure dix fois plus petite (0.05 p. 1000) on obtient des bandes pré-bêta à peine évidentes qui augmentent seulement après trois heures de traitement enzymatique.

2) *Influence du  $pH$*  : si un sérum de lait emprésuré à peine filtré est ajusté à différents  $pH$  avec H C l 0.1 N, la fraction pré-bêta est plus évidente autour de  $pH$  4.6. Dans ces essais la même fraction était bien visible à partir des  $pH$  plus élevés, jusqu'au  $pH$  4.3. A  $pH$  4 la fraction n'est plus démontable (fig. 3).

Pendant l'acidification du sérum présuré on obtient une précipitation, dans laquelle, jusqu'à  $pH$  4.6, on n'a pas observé la fraction pré-bêta.

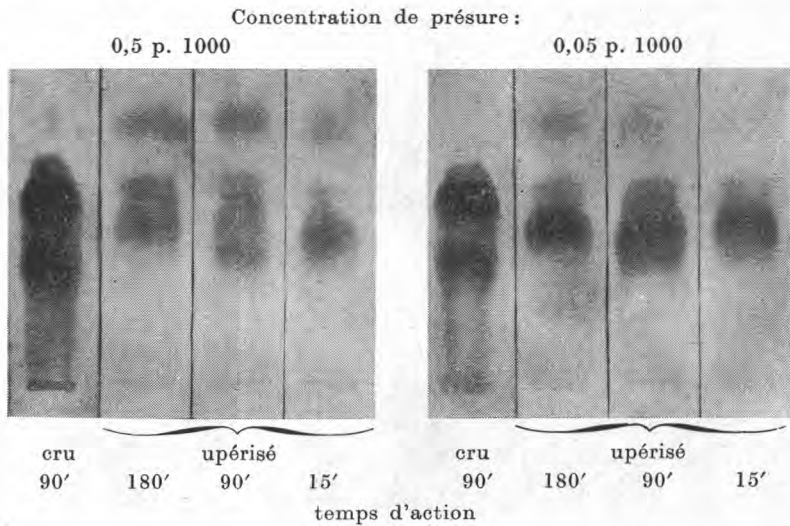


Fig. 2.

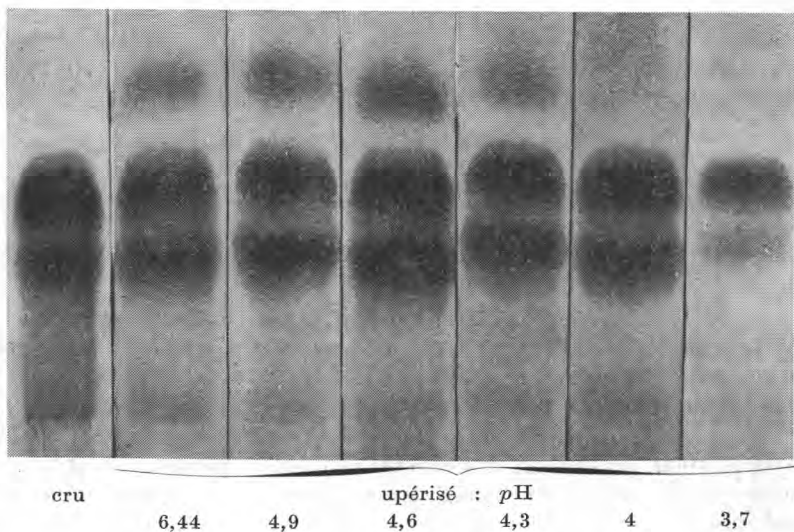


Fig. 3.

A remarquer que dans les sérums les plus acides, même les bandes normales vont diminuant d'intensité. Cela arrive dans les laits U H T aussi bien que dans les laits crus et pasteurisés.

3) *Influence des conditions de stockage* : le lait a été conservé jusqu'à trois mois aux températures de 5°, 20°, 37° et 55° C. Seulement la conservation à 55°, et parfois à 37° C., a provoqué

une altération évidente des bandes électrophorétiques (fusion de la  $\beta$ -lactoglobuline avec l' $\alpha$ -lactoalbumine) sans empêcher l'apparition de la fraction pré-bêta. On peut observer cela dans la figure 4, dans laquelle on peut aussi remarquer qu'il n'y a pas d'apparition de la fraction pré-bêta sur un échantillon de lait upérisé, conservé à 20° C. On remarque néanmoins que la fraction pré-bêta a paru dans d'autres migrations de laits upérisés conservés à la température ci-dessus indiquée.

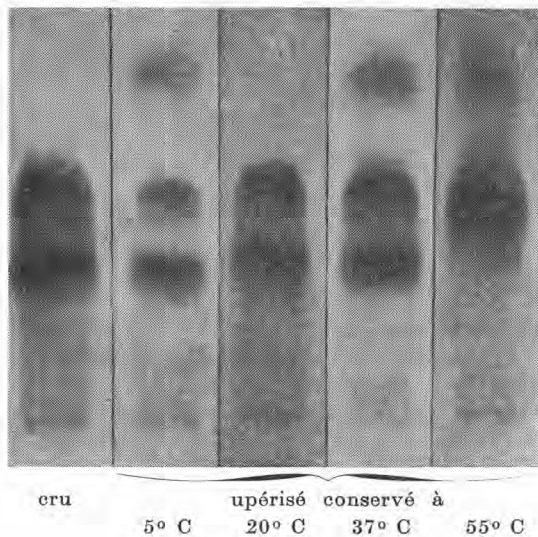


Fig. 4.

Des échantillons du même stockage du lait upérisé examinés depuis trois mois, ont été conservés à température de laboratoire ou autre pendant 5 mois. Dans ces échantillons on a même observé la bande pré-bêta. Naturellement depuis un si long stockage le lait présentait le phénomène de la gélification.

4) *Influence du temps et de la température du traitement* : il est intéressant de savoir si l'apparition de la bande pré-bêta se produit aussi après des traitements différents des systèmes U H T.

On a déjà dit que la pasteurisation normale ne provoque pas le phénomène décrit. Seulement en prolongeant beaucoup le temps de traitement on peut mettre en évidence une bande analogue à celle décrite ci-dessus. En effet avec une pasteurisation de laboratoire à 70° C dans des éprouvettes 10 × 160 mm, il faut au moins deux heures et 30' pour que le pré-bêta commence à apparaître. On obtient le maximum d'intensité en 3 heures et 3 heures 30', tandis qu'à partir de 4 heures la fraction se réduit sensiblement (fig. 5).

Avec le même système de pasteurisation, mais à des températures supérieures (80° et 90° C), on n'obtient pas de « pré-bêta »



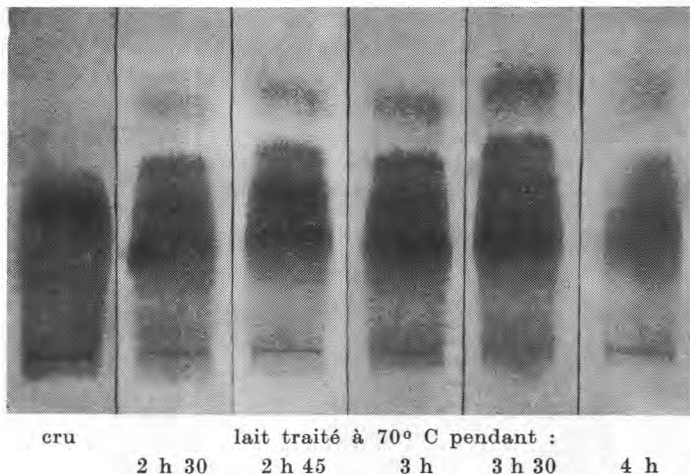


Fig. 5.

bien définies mais seulement des nuances à peine visibles. D'autre part, à ces températures, il est difficile d'obtenir un fractionnement correct du sérum parce que les protéines qui restent après le traitement thermique tendent à prendre l'aspect d'une seule bande continue à direction anodique. A vrai dire, il semble difficile d'obtenir avec un traitement thermique grossier, tel qu'on l'obtient dans des éprouvettes, les mêmes effets attribuables à l'upérisation.

Si l'on pousse le traitement thermique au-dessus de 90° C., on s'approche de la stérilisation du lait dans un autoclave telle qu'elle est pratiquée dans des buts industriels. Mais aussi dans ce cas on ne réussit pas à démontrer la présence de fractions en position pré-bêta : dans des échantillons provenant de trois établissements différents de stérilisation, la recherche a été négative.

### Summary

The rennet whey of milk treated at UHT shows, by paper electrophoresis, a fraction, of variable intensity and rapid migration, placed before  $\beta$  lattoglobulin.

The most elementary features, of the phenomenon observed, are described.

### BIBLIOGRAPHIE

- [1] ALAIS (C.), JOLLES (P.). — L'action de la présure sur la caséine. II<sup>e</sup> partie. Etudes des produits de la réaction et du substrat. *Le Lait*, 1964, 44, 138-152.