



**HAL**  
open science

# EMPLOI DE L'ACÉTONE DANS L'ANALYSE BIOLOGIQUE DU LAIT

Ch. Porcher, L. Comby

► **To cite this version:**

Ch. Porcher, L. Comby. EMPLOI DE L'ACÉTONE DANS L'ANALYSE BIOLOGIQUE DU LAIT. *Le Lait*, 1930, 10 (95), pp.481-493. <hal-00894991>

**HAL Id: hal-00894991**

**<https://hal.science/hal-00894991v1>**

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

# LE LAIT

## REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

### SOMMAIRE

#### Mémoires originaux :

CH. PORCHER & L. COMBY. — Emploi de l'acétone dans l'analyse biologique du lait . . . . .	481
8 <sup>e</sup> RAPPORT DE LA LAITERIE D'ESSAIS de l'Etat à HILLE- ROD, Danemark. — Traite- ment du lait par la chaleur (Stassanisation) ( <i>fin</i> ) . . . . .	493
CH. PORCHER. — Le lait au point de vue colloïdal. Re- cherches sur le mécanisme de l'action de la présure ( <i>suite</i> ) . . . . .	509
CH. PORCHER & MUFFET. — Le sort de la caséine dans la rétention lactée ( <i>fin</i> ) . . . . .	528
C. BARTHEL. — Au sujet de l'article de M. K. Katrand- jief sur la pasteurisation à basse température . . . . .	539

#### Bibliographie analytique :

1 <sup>o</sup> Les livres . . . . .	539
2 <sup>o</sup> Journaux, Revues, Sociétés savantes . . . . .	549
3 <sup>o</sup> Brevets . . . . .	591

#### Bulletin bibliographique :

Journaux, Revues, Sociétés sa- vantes . . . . .	593
--	-----

#### Documents et informations :

<i>Les nouveaux appareils en laite- rie.</i> — X. Mouleuse empaque- teuse pour le beurre . . . . .	596
Amélioration de la fabrication du fromage au Wisconsin . . . . .	598
Une fromagerie d'Emmental sous un contrôle pratique et scientifique . . . . .	599

## MEMOIRES ORIGINAUX

### EMPLOI DE L'ACÉTONE DANS L'ANALYSE BIOLOGIQUE DU LAIT (1)

par

Ch. PORCHER,

et

L. COMBY,

Docteur ès-Sciences physiques.

Docteur-Vétérinaire.

L'analyse en chimie générale, et plus particulièrement en chimie biologique, emploie très couramment l'alcool à des titres divers, pour provoquer des précipités dans les liqueurs en expérience. Tantôt, c'est le précipité même qui intéresse le chercheur, tantôt, au contraire, c'est le liquide surnageant que l'on filtre.

Comme les liqueurs sont toujours aqueuses, plus ou moins fortement, l'alcool introduit se trouve par conséquent dilué, et il en faut parfois de grandes quantités quand le titre alcoolique que l'on veut atteindre pour obtenir une séparation satisfaisante doit être élevé.

On a rarement recours ici à l'alcool absolu, qui se trouverait dilué,

(1) Ce travail est inspiré d'une thèse de Doctorat vétérinaire de l'un de nous, faite dans mon laboratoire (Ch. P.).

et, comme il coûte cher, on emploie de préférence des alcools forts dont on a la ressource d'employer une plus grande quantité.

Un autre inconvénient de l'alcool, c'est d'avoir un point d'ébullition relativement élevé : 78°, 3 et de former avec l'eau des hydrates, si bien que la distillation fractionnée, dans le but de se débarrasser de l'alcool précédemment utilisé, demande du temps et n'aboutit pas toujours à une séparation totale.

Si l'on employait l'alcool méthylique dont le point d'ébullition est plus bas : 66°, on retrouverait par ailleurs les mêmes inconvénients.

Pour ces raisons, plusieurs auteurs ont eu depuis longtemps l'idée de recourir à l'acétone, liquide miscible à l'eau, à l'alcool et à l'éther, ne donnant pas avec l'eau des hydrates et pouvant en être totalement séparé par la distillation fractionnée, qui, à la rigueur, peut être aidée du vide. Son point d'ébullition est bas : 56°.

Le commerce livre l'acétone à l'état anhydre, donc à 100 %. C'est dire que l'on dispose aisément d'un liquide qui, considéré uniquement du point de vue de sa concentration, est analogue à l'alcool absolu et est plus facilement conservable à l'état pur que ce dernier. Dans la récupération de l'acétone employée au laboratoire, récupération facile, on peut toujours aboutir à une acétone qui n'est que légèrement hydratée et qu'il reste à dessécher, d'abord sur du chlorure de calcium fondu, et ensuite, s'il est nécessaire, sur le sodium.

La substitution de l'acétone à l'alcool dans maintes opérations de la chimie biologique est d'autant plus recommandable que l'acétone, mieux que l'alcool, est un excellent dissolvant des graisses.

Parmi les auteurs qui ont eu recours à l'acétone dans l'analyse immédiate, en chimie biologique, il faut citer : A. FOURNIER, TERROINE, M. PIETTRE et A. VILA, A. IONESCU-MATIU et C. V. BORDEIANO et Ch. PORCHER.

Ch. PORCHER, dès 1903, a utilisé l'acétone pour la séparation du sucre du lait de bufflesse (1) et il est intéressant de montrer dans quelles circonstances.

Le lait additionné de son volume d'eau distillée est acidifié pour précipiter la caséine. En 1903, Ch. PORCHER utilisait à 5 cm<sup>3</sup> d'acide acétique par litre de lait, mais aujourd'hui, avec les données que nous possédons sur le point isoélectrique de la caséine, il est facile de précipiter cette protéine dans d'excellentes conditions. On filtre et l'on neutralise exactement le sérum avec de la soude pour que son pH, dirions-nous aujourd'hui, ne dépasse pas 7. On évapore au B. M. à consistance sirupeuse. La liqueur jaune, légèrement brunâtre, est agitée dans un entonnoir à robinet avec de l'acétone ajouté peu à peu. Il se sépare à un moment donné une masse brunâtre qui entraîne avec elle la matière

(1) Ch. PORCHER. — Sur le sucre du lait de bufflesse. *Bull. Soc. Chim. de Paris*, 1903 (3),

colorante de la liqueur. Le liquide surnageant hydro-acétonique d'un jaune très pâle est séparé et on lui ajoute un excès d'acétone qui détermine la précipitation du sucre sous forme de masses déjà cristallisées, craquant sous le doigt et sous la dent. Il a suffi de deux cristallisations dans l'eau pour purifier le produit qui a été ensuite caractérisé comme lactose. Nous renvoyons sur ce point au travail de Ch. PORCHER.

Ici la technique est simple ; il est vrai qu'elle ne visait qu'une séparation massive d'un corps dont le taux est élevé dans le lait. Aucune recherche quantitative n'a été faite, la matière première étant abondante.

Il a été procédé ici à la précipitation en deux étapes : d'abord, la séparation d'une masse brunâtre, laquelle a entraîné le pigment qui s'était développé lors de la concentration de la liqueur ; ensuite, par un nouvel apport d'acétone, on a précipité le lactose de la première liqueur hydro-acétonique où il était en solution. Nous avons là quelque chose d'analogue à ce qui se passe avec les extraits plus ou moins colorés de la chimie biologique quand on les traite par l'alcool.

Il est tout à la fois intéressant et remarquable de constater que, pour ainsi dire, du premier jet, on a obtenu des cristaux de lactose qu'il n'y a plus eu qu'à purifier par deux redissolutions. L'acétone, en effet, dissout peu de corps ; elle ne dissout pas les sucres et très peu les sels. Il est possible, et tout cela n'est qu'une question de quantité d'acétone à employer, d'obtenir des précipitations successives qui sont sous la dépendance de la richesse de la liqueur en acétone. On peut donc aller depuis des solutions peu acétoniques jusqu'à de l'acétone pur pour ainsi dire. (1)

A. FOURNIER (2) rappelle dans son travail que, dès 1902, il avait substitué l'acétone à l'alcool dans l'extraction des lécithines du jaune d'œuf, et il avait noté cette propriété précipitante de l'acétone que Ch. PORCHER avait utilisée pour l'obtention du sucre du lait de buffesse. Il signale que cette propriété se manifeste à l'égard de tous les liquides albumineux. Il relève en même temps que l'acétone est un solvant des graisses très supérieur à l'alcool, du moins à température égale.

Au cours de ses recherches, il est amené à utiliser l'acétone sur du lait écrémé soumis préalablement à la digestion sous l'influence d'un microbe protéolytique actif. L'alcool et l'acétone étant employés à volumes égaux, on a un précipité beaucoup plus abondant dans le cas de l'acétone.

(1) L'acétone nous a donné des résultats intéressants dans des recherches en cours dans mon laboratoire sur l'acidité du lait. Ils seront publiés ultérieurement. (Ch. P.)

(2) A. FOURNIER. — Les matières grasses du sang. Méthodes de dosage. *Th. Doct.-Méd.*, Paris, 1914.

Ce solvant a été également utilisé par A. FOURNIER sur le lait naturel non digéré au préalable.

En résumé, FOURNIER conclut que les avantages et les inconvénients de l'alcool et de l'acétone mis en balance, il accorde la préférence à l'acétone dans le cas où l'on fait habituellement agir l'alcool à froid aux fins d'analyse sur les tissus et les matières en dérivant.

M. PIETTRE et A. VILA (3 et 4) ont employé l'acétone pour la séparation des protéines du sang et du lait, mais il ne s'agit plus cette fois d'une précipitation massive de laquelle il est toujours difficile de séparer complètement et purement les corps qui ont précipité ensemble, mais bien d'une précipitation fractionnée, ce qui est d'un très grand intérêt.

La méthode de PIETTRE et VILA a été utilisée par Mlle J. BRIGANDO, et Ch. PORCHER pour la préparation de l'albumine et de la globuline du sang, en vue d'introduire ces deux protéines si différentes dans la préparation des laits synthétiques. Dans une étude que ces deux auteurs feront paraître ultérieurement sur le lait de femme, la technique de la séparation de l'albumine et de la globuline du sérum sanguin de vache sera donnée en détail.

Le fait principal qu'il faut retenir ici, c'est que M. PIETTRE et A. VILA recommandent, en insistant beaucoup, de faire les précipitations à 0°, sérum et acétone étant au préalable refroidis à cette température. Nous pensons même, dans certains cas, alors qu'il n'y a à craindre aucune congélation des liqueurs, qu'il y aurait intérêt à opérer à une température même plus basse.

M. PIETTRE a utilisé également l'acétone pour séparer du lactosérum les protéines qu'il contient. Nous donnerons ici quelques points de la technique de cet auteur, ce qui permettra de mieux comprendre les quelques remarques que son emploi soulève. Le lacto-sérum dont parle M. PIETTRE est le lacto-sérum d'emprésurage. Il effectue la coagulation du lait en agitant très vivement le liquide maintenu aux environs de 35°, alors qu'on ajoute goutte à goutte une solution assez concentrée de présure commerciale. En quelques minutes, le lait se coagule, et l'on voit apparaître de fins grumeaux de caséine. On filtre sur trompe, et pour un litre de lait, M. PIETTRE obtient 925 cm<sup>3</sup> de sérum.

Dans ce sérum, à côté de l'albumine normale du lait, on trouve le morceau détaché de la caséine par la présure qui représente environ 4 % de celle-ci et que HAMMARSTEN appelait la protéose soluble (*Molke-neiweiss*). Nous ajouterons les quelques centigrammes de globuline normale du lait de vache, mais, en somme, les deux morceaux principaux sont l'albumine, dont le taux oscille entre 3 gr. 50 et 4 gr. par litre,

(1) M. PIETTRE et A. VILA. — Sur la séparation des protéines du sérum. *C. R. Ac. Sc.* 1924, **170**, 1466.

(2) M. PIETTRE et A. VILA. — *C. R. Ac. Sc.* 1924, **178**, 91.

et la protéose soluble résultant du clivage labique, qui peut représenter 1 gr. à 1 gr. 25.

Toutes les opérations que signale M. PIETTRE dans son travail au cours de la séparation de ces deux protéines principales du lacto-sérum d'emprésurage demanderaient évidemment à se faire avec l'aide du potentiomètre de façon à bien s'assurer d'une réaction très précise des liqueurs. La protéine soluble, protéine néoformée au cours de l'emprésurage se rapprocherait des globulines par ses caractères physiques et ses réactions chimiques ; cependant, comme le fait remarquer M. PIETTRE, elle contient toujours des substances minérales, et pour 100 de cendres, il a trouvé 66,68 de chaux et 29,70 de  $P_2O_5$ .

Est-ce à dire que cette protéine soit régulièrement phosphorée ? Quand on sait les difficultés rencontrées dans la purification des matières protéiques au cours de leur séparation, qui se faisait autrefois en présence de fortes charges salines et qui peut se faire aujourd'hui, mieux sans doute, avec l'aide de l'acétone, on ne doit pas s'étonner de trouver fixées sur certaines protéines, qui théoriquement ne doivent posséder aucune charge minérale, partie des matières salines les environnant dans les liqueurs originelles et qui viennent en quelque sorte les teindre au cours de leur précipitation. C'est sans doute ce qui s'est passé dans la préparation de la globuline ci-dessus.

M. PIETTRE conclut que « de même que pour le sérum sanguin et le blanc d'œuf, la méthode à l'acétone permet, sans sacrifier aucun des éléments du lait, de séparer analytiquement les protéines du lacto-sérum ».

La critique que l'on peut adresser à ce travail, c'est d'avoir utilisé la présure pour précipiter la caséine et de ne pas avoir laissé sous-entendre que le lacto-sérum obtenu est fatalement différent par sa composition du lacto-sérum de précipitation acide, par exemple, et de tout autre lacto-sérum qui permettrait de précipiter la caséine en milieu neutre. Sans aucun doute, ce lacto-sérum n'est nullement comparable à celui qui résulterait de la précipitation de la caséine par les acides au point isoélectrique. Si le lacto-sérum d'emprésurage, en dehors de l'albumine et de la globuline normales, cette dernière ne faisant que quelques centigrammes du total, contient la protéose soluble séparée de la caséine lors de son clivage sous l'action du ferment-lab, le lacto-sérum acide ne renferme que de l'albumine, à condition, bien entendu, que la précipitation ait été effectuée exactement au point isoélectrique. Sinon, si l'on dépasse ce point, en s'enfonçant dans la zone acide des  $pH$  par rapport au  $pH = 4,6$ , on redissout l'albumine ; si, au contraire, on n'arrive pas à ce point, en restant en deçà, on ne précipite pas entièrement la caséine.

Quoi qu'il en soit, nous retiendrons des recherches de M. PIETTRE qu'elles nous fixent une technique qu'il ne nous reste plus qu'à amélio-

rer pour la séparation des protéines du lait et des lacto-sérums, soit d'emprésurage, soit d'acidification. Le recours au potentiomètre pour fixer avec précision la réaction des liqueurs, l'emploi des basses températures pour les séparations acétoniques sont là des données des plus utiles à mettre en œuvre.

**Quelques considérations sur la méthode officielle de l'analyse du lait.** — Les laboratoires officiels chargés de l'analyse des laits qui leur sont soumis en vue de la recherche de la fraude sont tenus de suivre les indications d'une méthode officielle d'analyse. La critique de cette méthode serait assez facile, mais, pour le moment, nous n'avons nullement l'intention de la tenter, d'autant plus que l'on peut toujours se demander si une méthode officielle est capable de donner dans tous les cas des chiffres qui soient vraiment à l'abri de la critique. On doit reconnaître que tant que cette méthode, et nous en dirions autant de toute autre méthode officielle, s'appliquera à des laits de grands mélanges, c'est-à-dire à des laits-types dont les variations à l'état normal sont peu étendues, elle donnera toujours des résultats comparables et permettra de déceler la fraude. Mais il n'en est plus de même si l'on a la prétention d'utiliser cette méthode officielle pour les analyses des laits anormaux ou pathologiques qui sont des laits individuels. Bonne pour les laits-types, cela peut très bien ne pas aller pour les laits qui s'en écartent, et cela même ne va pas le plus souvent, car il s'agit là d'espèces vraiment différentes pour l'analyse desquelles les méthodes générales doivent être employées, et non pas la méthode officielle de triage rapide. Dans la recherche de la fraude, on n'a pas toujours à faire à des laits de grands mélanges. Lorsqu'ils'agit de prélèvements faits sur des laits individuels ou de tout petits mélanges, de laits qui peuvent être chargés de tares pathologiques, la méthode officielle peut nous conduire à des résultats contestables.

L'alcool utilisé dans la méthode officielle pour la précipitation de la caséine est un alcool à 65° acidifié au 1/1.000 par de l'acide acétique. En fait, ce n'est pas de la caséine pure que l'on précipite, mais une caséine chargée de matières minérales, puisque la méthode officielle indique qu'il faut multiplier le poids trouvé en caséine brute par 0,925, coefficient qui résulte de nombreuses déterminations. C'est reconnaître implicitement que le précipité dit de caséine n'est qu'une caséine riche en matières salines, peut-être même un caséinate faiblement calcique, malgré l'acidité du milieu, parce que toutes les fois que l'on précipite des protéines en milieu minéral, et que cette précipitation a lieu *rapidement*, comme c'est le cas dans la méthode officielle, on a beau avoir une acidité nette du milieu — on pourrait même l'exagérer —, la caséine que l'on précipite n'est pas absolument déminéralisée (1).

(1) Voir Ch. PORCHER et J. BRIGANDO : Les différences analytiques de la caséine-acide et de la caséine-présure. — *Ann. des Falsif. et des Fraudes*, 1929, p. 153.

Il serait intéressant de rechercher si l'on ne pourrait pas substituer l'acétone à l'alcool, après avoir toutefois séparé au point isoélectrique sur le lait lui-même la caséine par un acide, l'acide acétique ou un autre. Dans ce cas, l'acétone ne serait ajouté à la liqueur qu'après la précipitation, alors que les flocons de caséine très humides, et par suite perméables à l'acétone, permettraient à ce solvant de s'emparer facilement de la matière grasse.

Ce ne sont là que des indications assez vagues, mais sachant tout ce que l'on peut tirer de la substitution de l'acétone à l'alcool en analyse biologique, on aperçoit l'intérêt qu'il y aurait à pousser les choses plus à fond. Il n'est pas douteux que l'emploi de l'acétone provoquerait des précipités qui eux aussi seraient chargés de substances minérales. Mais il y a là des quantums à déterminer, et surtout, ce qu'il importe, il faut voir quelle est la nature de cette charge saline surajoutée à la protéine.

#### **Sur la précipitation de la caséine dans le lait par l'acétone. —**

Le succès des méthodes de BABCOCK et de GERBER pour le dosage de la matière grasse dans le lait et des méthodes analogues a suggéré l'idée à plusieurs chercheurs d'obtenir une méthode semblable pour le dosage de la caséine.

Au Congrès de Chimie appliquée de 1927, A.-L. IONESCU-MATIU et C.-V. BORDEIANO ont indiqué une méthode de dosage volumétrique des substances protéiques du lait précipitées par un réactif acétono-mercurique préparé en dissolvant 5 gr. de chlorure de mercure dans 100 cm<sup>3</sup> d'acétone. Le réactif est avantageux parce que les graisses restent en solution dans l'acétone qui surnage le précipité.

Les auteurs ont construit une éprouvette spéciale qui permet la mesure exacte du volume du précipité protéo-mercurique, et en dernière analyse, de la quantité de protéines pour 100 de lait.

De nombreuses déterminations leur ont montré que les résultats obtenus par cette méthode dans le lait normal concordent, dans les limites exigées dans la technique, avec ceux obtenus par la méthode KJELDAHL.

Il est évident que ces recherches, si elles se confirment, sont pleines d'un grand intérêt.

Un inconvénient qui n'est pas mince, dira-t-on, c'est d'utiliser un réactif comme le chlorure mercurique, très toxique, et qu'il ne convient pas de mettre entre les mains de personnes inexpérimentées ; mais, au fond, la question n'est point là, et la critique que l'on peut adresser à la méthode dont le principe vient d'être donné, ainsi d'ailleurs qu'à toute autre méthode qui prétendrait doser la caséine par le volume d'un précipité, c'est que justement, il s'agit là d'un précipité, c'est-à-dire d'un ensemble de petits flocons fatalement non homogènes, ne se

présentant pas toujours dans les mêmes conditions, pouvant se tasser plus ou moins, et donner par conséquent un égal volume pour des quantités de caséine différentes. Il est certain *a priori* que des laits qui coagulent mal par la présure, laits de mammites, laits colostraux, riches en protéines, notamment en globuline, nous donneraient souvent des précipitations plus ou moins massives, ne ressemblant nullement aux précipitations d'un lait normal, et dans ces conditions, toute comparaison semble interdite.

BOUIN, dans le premier numéro de la Revue « Le contrôle laitier », a employé la méthode de DENIGÈS pour le dosage *volumétrique* de la caséine. A lire son travail, on y relève des amplitudes assez grandes qui permettent de dire que la méthode n'est pas encore au point.

Nous avons pensé que l'acétone pourrait nous donner des résultats intéressants. En ajoutant au lait des quantités données d'acétone, dans des conditions bien précisées de température et d'agitation, peut-être arriverait-on à provoquer un précipité protéinique dont les flocons seraient toujours semblables à eux-mêmes, ce qui nous permettrait, pour un même volume, du précipité, de conclure à une même richesse en caséine.

On sait toutes les difficultés de la méthode néphélométrique qui a pour but de faire des dosages par la mesure de l'opacité d'un nuage-résultant de la précipitation extrêmement fine de la substance à doser, au sein de l'eau. Il faut, en effet, beaucoup de régularité dans l'obtention de ce nuage, sinon la méthode ne va plus. Ici, nous sommes placés dans des conditions différentes, moins favorables ; aussi, devons-nous être dans le vrai en disant que la précipitation de la caséine, dans les conditions ci-dessus esquissées, aboutit à une grande irrégularité dans la grosseur des flocons, ce qui est un obstacle à une mesure exacte, par voie volumétrique.

Quand on fait agir l'acétone sur le lait, il semble *a priori* qu'on doive opérer en milieu acide, car si nous n'acidifions pas, le précipité obtenu serait fait de caséinate calcique, et même du complexe : caséinate de calcium + phosphates de calcium, et en se rassemblant, nul doute qu'il n'entraînerait avec lui d'autres matières salines.

Les recherches de l'un de nous avec Mlle J. BRIGANDO que nous rappelons un peu plus haut nous montrent en effet le facile entraînement de toute matière minérale se trouvant dans l'atmosphère d'une protéine, lorsqu'on précipite cette dernière.

Dans ces conditions, il y a beaucoup de chances que le précipité déterminé par l'acétone soit chimiquement parlant irrégulier, et en conséquence, on doit estimer que les résultats ne seraient pas comparables. L'acétone ajouté au lait précipiterait également l'albumine pour un quantum déterminé ; nous laissons de côté la globuline, dont le taux est extrêmement faible dans le lait normal de vache.

Malgré toutes ces réserves, relevons quelques expériences que nous avons faites.

EXPÉRIENCE I. — Le lait a un  $pH = 6,74$  et une acidité D de  $17^{\circ} 5$ .

50  $cm^3$  de ce lait commencent à précipiter, c'est-à-dire perdent leur homogénéité, par l'addition de 14  $cm^3$  d'acétone. Avec 15  $cm^3$ , la précipitation s'amorce nettement, mais pour qu'elle soit complète, il faut 35  $cm^3$ , c'est-à-dire les  $7/10$  du volume initial du lait.

Le  $pH$  du sérum acétonique, après filtration = 6,22.

Des recherches faites, d'autre part, dans le laboratoire de Ch. PORCHER ont montré que pour précipiter complètement la caséine au point isoélectrique d'un lait de grand mélange, il fallait, pour 20  $cm^3$  de lait, 2,4  $cm^3$  de HCl N/2.

Nous allons combiner ces deux données, la première, relative à la quantité d'acétone nécessaire pour précipiter les protéines en milieu neutre, la seconde qui concerne nettement la quantité d'acide qu'il faut pour précipiter en l'absence d'acétone la caséine au point isoélectrique.

EXPÉRIENCE II. — 1<sup>o</sup> Centrifugation d'un lait précipité seulement par HCl N/2 : 10  $cm^3$  de lait et 1  $cm^3$  de HCl N/2. On centrifuge dans un tube gradué après précipitation. La caséine se rassemble mal ; une partie va au fond, mais l'autre va à la surface. Deux essais effectués de la même manière ne présentent pas les mêmes hauteurs de précipité de caséine ;

2<sup>o</sup> Centrifugation d'un lait précipité seulement par l'acétone : 10  $cm^3$  de lait sont précipités par 7  $cm^3$  d'acétone. C'est bien la quantité qu'il faut d'après ce qui a été dit un peu plus haut. On centrifuge ; la caséine se rassemble mieux que dans l'essai précédent. Toutefois, une petite pellicule reste à la surface du tube de centrifugation ;

3<sup>o</sup> On combine maintenant l'acétone et l'acide chlorhydrique, et on fait les mélanges suivants :

1 <sup>o</sup>	10 $cm^3$ de lait	+ 0,2 $cm^3$ de HCl N/2	+ 6 $cm^3$ d'acétone
2 <sup>o</sup>	10 $cm^3$ id.	0,4 $cm^3$ id.	5 $cm^3$ id.
3 <sup>o</sup>	10 $cm^3$ id.	0,5 $cm^3$ id.	4 $cm^3$ id.
4 <sup>o</sup>	10 $cm^3$ id.	0,6 $cm^3$ id.	3,5 $cm^3$ id.
5 <sup>o</sup>	10 $cm^3$ id.	0,7 $cm^3$ id.	3 $cm^3$ id.
6 <sup>o</sup>	10 $cm^3$ id.	0,8 $cm^3$ id.	2,5 $cm^3$ id.
7 <sup>o</sup>	10 $cm^3$ id.	0,9 $cm^3$ id.	2 $cm^3$ id.
8 <sup>o</sup>	10 $cm^3$ id.	1,0 $cm^3$ id.	1,5 $cm^3$ id.

Les précipitations les meilleures sont assurées dans les essais 1, 2 et 3.

Etant donné qu'on a affaire à des quantités différentes d'acide, et également d'acétone, la quantité d'acétone diminuant lorsque la quantité d'acide augmente il est certain *a priori* que les précipités obtenus n'ont pas la même composition chimique.

EXPÉRIENCE III. — Sur un lait un peu plus acide de  $pH = 6,56$  et d'acidité Dornic de  $18^{\circ}$ , on précipite complètement la caséine en ajoutant 7  $cm^3$  d'acétone à 10  $cm^3$  de lait. Le  $pH$  de la liqueur acétonique = 6,06.

On opère les mélanges suivants :

1°	10 cm <sup>3</sup> de lait	+ 7 cm <sup>3</sup> d'acétone		
2°	10 cm <sup>3</sup> id.	7 cm <sup>3</sup> id.	+ 0,1 cm <sup>3</sup> de HCl N/2	
3°	10 cm <sup>3</sup> id.	6 cm <sup>3</sup> id.	0,2 cm <sup>3</sup>	id.
4°	10 cm <sup>3</sup> id.	5 cm <sup>3</sup> id.	0,4 cm <sup>3</sup>	id.
5°	10 cm <sup>3</sup> id.	4 cm <sup>3</sup> id.	0,5 cm <sup>3</sup>	id.
6°	10 cm <sup>3</sup> id.	3 cm <sup>3</sup> id.	0,6 cm <sup>3</sup>	id.
7°	10 cm <sup>3</sup> id.	2,5 cm <sup>3</sup> id.	0,8 cm <sup>3</sup>	id.
8°	10 cm <sup>3</sup> id.	1,5 cm <sup>3</sup> id.	1,0 cm <sup>3</sup>	id.

Dans des tubes gradués, on centrifuge. C'est la centrifugation des échantillons 5 et 6 qui donne les meilleurs résultats, mais il y a toujours un peu de caséine surnageant à la surface du liquide, lequel est très clair.

Voici les *pH* des liquides acétoniques :

1°	.....	6,06
2°	.....	5,93
3°	.....	5,63
4°	.....	5,40
5°	.....	5,20
6°	.....	4,95
7°	.....	4,90
8°	.....	4,85

On renouvelle l'essai 6° en ajoutant de l'ammoniaque *dans* le lait : 10 cm<sup>3</sup> de lait, V gouttes d'ammoniaque, 4,8 cm<sup>3</sup> de HCl N/2, et on centrifuge.

La précipitation n'est pas complète. On recommence l'essai et on examine la partie surnageante, car il reste toujours par centrifugation une pellicule à la surface du liquide, faite de caséine et de matière grasse.

Après des tâtonnements, il semble que la précipitation et la centrifugation les meilleures sont obtenues pour 10 cm<sup>3</sup> de lait avec 5 cm<sup>3</sup> d'acétone et 0,65 cm<sup>3</sup> de HCl N/2.

En somme, *ces essais ne sont pas encourageants parce qu'ils sont essentiellement réguliers.*

Jusqu'ici, il n'a pas été question de séparer l'albumine et la globuline, et on peut se demander si l'acétone, en l'absence de tout acide, précipite totalement ou non toutes les protéines du lait, c'est-à-dire l'albumine en même temps que la globuline.

Des dosages d'azote sont, ici, nécessaires.

Nous avons donc repris les essais précédents, dans lesquels nous avons combiné l'emploi de l'acétone et de l'acide en dosant cette fois l'azote dans le sérum de centrifugation.

EXPÉRIENCE IV. — 1° 20 cm<sup>3</sup> de lait sont additionnés de 14 cm<sup>3</sup> d'acétone.

2° A 20 cm<sup>3</sup> de lait, on ajoute 10 cm<sup>3</sup> d'acétone et 1,2 cm<sup>3</sup> de HCl N/2.

Le lait employé dans ces deux essais avait un *pH* = 6,92 et une acidité Dornic de 18°.

On centrifuge pendant un quart d'heure, après quoi les deux tubes sont examinés.

Les sérums sont très clairs et le précipité est bien tassé au fond du tube.

Un dosage d'azote est effectué sur le lait témoin et sur chacun des sérums.

*Résultats* : Lait témoin : 4,60 grammes pour 1.000 d'azote, ce qui fait avec le facteur 6,39 : 29,40 en caséine.

Azote des sérums :

1° Précipitation par l'acétone seul : 19,26 milligrammes pour 1.000 d'azote, soit 0 gr. 123 de protéine au litre.

2° Précipitation mixte par l'acétone et l'acide : 19 milligrammes pour 1.000 d'azote, soit 0,121 grammes de protéine au litre.

D'après ces premiers résultats, il semble que la précipitation par l'acétone seul ou l'acétone et l'acide combinés donne un sérum dont la richesse en azote est la même dans les deux cas.

EXPÉRIENCE V. — Nous avons comparé maintenant le dosage officiel de la caséine tel qu'il a été donné plus haut par l'acide acétique, et celui où l'on a recours à l'acétone acétique.

1° Alcool acétique : A 25 cm<sup>3</sup> de réactif, on verse goutte à goutte le lait mesuré, puis on centrifuge.

2° Acétone acétique : On prend l'acétone ordinaire renfermant 1 pour 1.000 d'acide acétique. 10 cm<sup>3</sup> sont placés dans un tube à centrifugation, et on ajoute goutte à goutte 10 cm<sup>3</sup> de lait. On centrifuge.

Sur chacun des sérums surnageant après la centrifugation, nous prenons le pH et les degrés Dornic, puis nous dosons l'azote, ainsi que sur le coagulum restant.

Voici les résultats obtenus :

Lait témoin .....	6,92	18°
Sérum du lait traité par l'acétone acétique .....	5,80	21°
Sérum du lait traité à l'alcool acétique .....	5,39	22°
Les dosages d'azote nous donnent :		
Lait témoin .....	4,515 grammes	
Alcool acétique :		
a) Sérum .....	0,70 grammes	
b) Coagulum .....	3,80 grammes	
	<hr/>	
	4,50 grammes	
Acétone acétique :		
a) Sérum .....	0,03 grammes	
b) Coagulum .....	4,50 grammes	
	<hr/>	
	4,53 grammes	

Nous voyons que l'acétone acétique précipite presque en totalité des matières protéiques. En effet, alors que la méthode officielle laisse un quantum d'azote important dans le sérum, près de 4 gr. 50 au litre, l'acétone acétique n'en laisse à peine que 20 cgrs. Le précipité est chargé de matières salines, ainsi que nous avons pu nous en rendre compte.

Nous n'avons pas la prétention ici de fixer des règles, mais simplement d'appeler l'attention sur l'intérêt qu'il y aurait à reprendre ces essais et à les multiplier avant de conclure.

La différence si nette qu'il y a dans la richesse en azote des filtrats après précipitation acide seulement et acide-acétone, nous ramène à une remarque que nous avons faite incidemment plus haut. L'emploi de l'acétone chloruro-mercurique par A. IONESCU-MATIU et C.V. BORDEIANO, de la méthode de DENIGÈS par BOUIN, ne saurait conduire à une précipitation pure et simple de la caséine ; c'est une précipitation totale de l'azote protéinique qui est déclanchée, et si pour les laits normaux, les laits de mélange, on peut grossièrement accepter que l'azote de l'albumine est en proportion assez constante vis-à-vis de l'azote caséinique, il n'en est plus de même avec les laits individuels qui peuvent être anormaux ou malades. Aussi, la méthode qui ne vise rien moins qu'à sélectionner les animaux sur la base de la richesse de leur lait en caséine se heurte-t-elle déjà à une première difficulté, celle de confondre dans un même précipité dont elle entend utiliser le volume comme mesure de la caséine, et cette dernière protéine et l'albumine et la globuline, dont le taux négligeable à l'état normal doit s'exagérer pour peu que le lait-provienne d'une mamelle malade, visiblement ou non.

**Emploi de l'acétone dans la préparation de la caséine au laboratoire.** — L'un de nous, dans un travail récemment publié (1), a montré le grand intérêt que l'on aurait à substituer, dans la préparation de la caséine pure au laboratoire, l'acétone tout à la fois à l'alcool et à l'éther, couramment employés jusqu'ici. D'une façon générale, une fois que la caséine a été précipitée pour une dernière fois, après des précipitations et des redissolutions antérieures, afin de la dégager de toute teinture minérale, on sait que cette caséine est broyée par deux fois dans l'alcool fort, ce qui la déshydrate, et que, ensuite, elle est lavée à l'éther plusieurs fois dans un appareil de SOXHLET.

L'inconvénient de l'alcool, c'est que s'il déshydrate la caséine en même temps qu'il la lave, il fait un éther : du caséinate d'éthyle qui est déjà un peu soluble dans l'alcool, ce qui entraîne des pertes, lesquelles ne sont heureusement pas considérables. Cette réaction entre la caséine et l'alcool ne semble pas dénaturer la protéine, le caséinate d'éthyle étant très peu stable et se dissociant facilement. Néanmoins, il persiste longtemps dans la masse, et la preuve, c'est qu'après une vingtaine de lavages par de l'éther au SOXHLET, lorsqu'on recueille la caséine pour la dessécher sous un vide léger, on obtient une poudre très fine, très friable qui pendant longtemps encore sent l'alcool, les nombreux la-

(1) Ch. PORCHER. — *Le lait au point de vue colloïdal*. — Th. Doct. Sc. phys., Lyon, 1929, p. 160.

ges n'ayant pas débarrassé la caséine de l'alcool qui l'avait imprégnée, parce qu'il y était resté sous la forme d'éther éthylique.

Dans nos dernières préparations, nous substituons à l'éther, l'acétone. C'est un corps neutre qui ne peut pas donner d'éther avec la caséine, qui bout à basse température et qui peut même tout à la fois se substituer à l'alcool et à l'éther, si bien qu'il n'y a qu'un seul solvant à employer.

Dans la préparation de la caséine, un des avantages de l'éther, c'est d'être un solvant antiseptique et la caséine pulvérulente que l'on obtient à la fin des opérations est stérile, et par conséquent, peut être employée, en observant toutes les précautions que les recherches microbiologiques imposent, pour faire des solutions qui n'auraient pas besoin d'être stérilisées.

❖ L'acétone jouit de propriétés analogues, ce qui est une raison de plus à ajouter aux précédentes pour justifier son emploi dans la préparation de la caséine au laboratoire.

**Conclusions.** — I. — L'acétone est un solvant qui mérite d'être utilisé dans l'analyse biologique du lait.

II. — Une méthode qui viserait à doser volumétriquement la caséine dans le lait par précipitation de celle-ci avec l'acétone seul ou l'acétone acide ne nous paraît pas recommandable jusqu'ici.

III. — Alors que l'alcool acétique ne précipite que la caséine dans le lait et laisse dans le sérum l'albumine, l'acétone acétique précipite presque la totalité des protéines du lait.

IV. — L'acétone peut être substitué à l'alcool et à l'éther dans la préparation de la caséine pure au laboratoire.

## TRAITEMENT DU LAIT PAR LA CHALEUR

(*Stassanisation*)

8<sup>e</sup> RAPPORT DE LA LAITERIE D'ESSAIS DE L'ETAT,  
A HILLEROD (Danemark)

(*Fin*)

**CONSOMMATION D'EAU DE L'APPAREIL A STASSANISER.** — La consommation d'eau nécessaire pour refroidir le lait dépend tout d'abord de la température à laquelle on désire refroidir le lait, qui dépend à son tour de l'utilisation à donner au lait ; mais comme il s'agit de chauffer du lait destiné à la consommation, il est naturel de refroidir le lait à la température la plus basse possible que permet l'eau de fontaine employée : c'est sur cette base que les mesures de consommation d'eau furent effectuées.

Ici, la température de l'eau de fontaine est de 8 à 9° C. (46° 4 à