



HAL
open science

PRÉSURES VÉGÉTALES. EXTRACTION ET PROPRIÉTÉS

C. Christen, E. Virasoro

► **To cite this version:**

C. Christen, E. Virasoro. PRÉSURES VÉGÉTALES. EXTRACTION ET PROPRIÉTÉS. *Le Lait*, 1935, 15 (144), pp.354-363. <hal-00895192>

HAL Id: hal-00895192

<https://hal.science/hal-00895192v1>

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

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

PRÉSURES VÉGÉTALES. EXTRACTION ET PROPRIÉTÉS

par

C. CHRISTEN et E. VIRASORO

(Institut de Recherches Scientifiques et Techniques de la Faculté de Chimie Industrielle, Université Nat. du Litoralle, Santa-Fé, R. Argentine.
Directeur : Dr. H. DAMIANOVICH.)

La propriété qu'ont certains végétaux de coaguler le lait est connue depuis bien longtemps. Ce phénomène est dû à la présence d'une enzyme dont les caractères semblent être pareils à ceux du *lab*, enzyme coagulante qui se trouve généralement dans l'estomac des mammifères.

Cette enzyme est assez répandue dans le règne végétal et chez les êtres inférieurs. On la trouve dans les composés, les crucifères, les rubiacés, les renonculacés, les solanées, les plantes carnivores, les algues brunes, les basidiomycètes, etc.

Le nombre des travaux connus jusqu'à présent sur ce sujet peut être considéré comme faible, vu l'importance de ces enzymes.

Ainsi nous avons cru intéressant d'entreprendre une suite de recherches afin de contribuer à faire mieux connaître ces enzymes et d'étudier en même temps les possibilités de leur emploi dans l'industrie laitière (industrie fromagère, caséinière, etc.).

PRÉSURE DU CHARDON

Le chardon est une composée très répandue dans les Provinces de Buenos-Aires, Cordoba et sud de Santa-Fé où elle est considérée comme une plaie de l'agriculture. D'après le botaniste M. L. PARODI, on trouve dans les régions citées, les sept espèces de *Cynareae* suivantes : *Silybium marianum* Gaert. L., *Onopordon acanthium* L., *Cynara cardunculus* L., *Cirsium lanceolatum* Scop. L., *Carduus macrocephalus* Desf., *Carduus pycnocephalus* L., *Carduus acathoides* L.

Dans notre travail, nous avons employé le *Cynara cardunculus* (chardon de Castille), variétés sauvage et cultivées, lesquelles, d'après le botaniste cité, sont une même espèce.

Distribution de la présure dans la plante.

Comme on le verra tout de suite, cette enzyme se trouve seulement dans la fleur.

On prépare des échantillons des différentes parties du végétal,

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

on les divise en petits morceaux, on les écrase, on ajoute chacun d'eux à un même volume de lait afin de déterminer leur activité coagulante à 40° C.

Voici les résultats :

Partie du végétal	Poids de l'échantillon (gr.)	Temps de coagulation
Fleur : partie supérieure lilas du style	0,05	Coagulation en 3 minutes.
Fleur : partie moyenne (anthères soudées)	0,05	Coagulation en 9 minutes
Fleur : partie inférieure	0,05	Pas de coagulation en 75 minutes
Fleur : ovaire	0,10	— en 70 minutes
Fleur : réceptacle	0,15	— en 65 minutes
Tige	0,20	— en 55 minutes
Feuille	0,30	— en 40 minutes

Extraction.

Pour l'extraction de la présure de l'inflorescence, on sépare la partie active (parties supérieure et moyenne) qu'on laisse sécher à l'air.

100 inflorescences donnent environ 870 gr. de matière active qui perd au bout de 24 heures à peu près 50% de son poids, et, au bout de 3 mois, quelque 65%. Ce dernier chiffre représente à peu près la perte que subit un échantillon mis pendant une semaine à l'étuve à 45° C. et ensuite le même temps à l'excicateur à chlorure de calcium. Cette matière desséchée conserve pendant longtemps son activité ; on ne trouve pas, même au bout d'un an, de changement.

Généralement, l'extraction d'une enzyme du milieu où elle se trouve, présente des inconvénients, surtout à cause des autres substances qui passent en même temps dans le dissolvant utilisé ; cela complique l'obtention de produits très actifs, c'est-à-dire, peu chargés de substances étrangères.

Nous décrivons ci-dessous les procédés qui nous ont le mieux réussi dans l'extraction de la présure du chardon, ainsi que les caractères et les activités des produits obtenus.

A. EXTRACTION AQUEUSE. — La matière, mélangée au sable lavé, est écrasée dans un mortier avec une solution de chlorure de sodium à 5%. Ce mélange est agité dans un agitateur électrique en l'y laissant macérer pendant 1 à 2 jours. On fait d'abord une filtration sur toile et le liquide filtré, qui reste trouble, est centrifugé puis, ensuite, filtré sur papier. On obtient ainsi une liqueur de couleur caramel,

d'un $pH = 4,5$ et d'une activité (1) 1 : 400 et rapportée à la fleur sèche 1 : 2.000.

En faisant varier le pH entre 4,5 et 7, nous n'avons constaté aucune influence sur l'activité des extraits.

Fractionnement de la liqueur.

L'alcool étant un des agents les plus employés dans la précipitation des enzymes, nous avons essayé un fractionnement, au moyen de ce dissolvant, d'un extrait aqueux de présure. La solution fut portée à un degré alcoolique de 35%, le précipité fut ensuite séparé, et, au filtrat, il fut ajouté de l'alcool jusqu'à 75%. Le nouveau précipité fut séparé et le filtrat évaporé à sec.

Ces différentes fractions possèdent les activités suivantes :

Résidu sec de la précipitation à 35% d'alcool.	1 : 300
Résidu sec de la précipitation à 75% d'alcool.	1 : 4.500
Résidu sec d'évaporation du dernier filtrat.	nulle

Comme l'on peut voir, le précipité séparé au 75% d'alcool renferme pratiquement la totalité de la présure ; du reste, on peut éliminer une grande partie de substances étrangères, en séparant d'abord le précipité formé au 35% d'alcool.

Epuisement de la présure dans le végétal.

Est-ce que les traitements aqueux arrivent à extraire complètement la présure contenue dans le végétal ?

En faisant macérer des fleurs sèches, préalablement traitées par de l'éther de pétrole, dans la solution de ClNa à 5%, comme on l'a déjà indiqué, on obtient une première liqueur. Ce traitement est répété encore deux fois sur le même résidu en séparant ainsi une deuxième et troisième liqueur. Les activités de chacune de ces liqueurs sont les suivantes :

- La 1^{re} liqueur (volume total) peut coaguler 258 litres de lait dans les conditions normales ;
- La 2^e liqueur (volume total) peut coaguler 76 litres de lait dans les conditions normales ;
- La 3^e liqueur (volume total) peut coaguler 17 litres de lait dans les conditions normales.

Il ne faut pas oublier qu'une filtration non suivie d'un lavage, n'extrait pas complètement le liquide que contient le produit ; un autre traitement fait passer dans la deuxième portion du dissolvant, le reste du liquide retenu par la matière végétale en lui communiquant son activité. C'est pourquoi on trouve encore de la présure dans les liqueurs de deuxième et troisième traitement. Nous pouvons

(1) Nous entendons par « activité », ce que l'on entend par « force » d'une présure.

donc dire que, pratiquement, une seule macération du produit, suivie d'un lavage du résidu, sépare, de fait, la totalité de la présure qui peut être extraite dans ces conditions.

Traitement préalable du végétal.

En séchant les fleurs, soit à l'air, soit à l'étuve, on n'arrive pas à obtenir une matière cassante, ce qui empêche sa trituration, et par conséquent, le passage de l'enzyme au dissolvant se fait avec une certaine difficulté pendant la macération. C'est pourquoi on a dû éliminer les substances résineuses et grasses du végétal, au moyen d'un dissolvant et, dans ce sens, nous avons trouvé que l'éther de pétrole convenait le mieux.

B. EXTRACTION PAR L'EAU ALCOOLIQUE. — Nous avons obtenu les meilleurs résultats dans l'extraction de la présure du chardon par macération dans l'eau alcoolique, ce qui rend la filtration facile en donnant des liqueurs plus actives et limpides. L'optimum de concentration en alcool a été déterminé expérimentalement, voici les résultats :

Volume de solution alcoolique pour 2 gr. d'échantillon	Degré alcoolique de la solution	Aspect du filtrat	Activité de la liqueur par rapport au volume total employé
10	10%	très trouble	8.420
10	20%	limpide	8.000
20	26%	limpide	8.000
10	30%	très limpide	7.060
10	40%	très limpide	5.000

Donc, le degré alcoolique convenant le mieux est celui de 20%, car avec un degré inférieur en alcool la filtration est lente et la liqueur obtenue est trouble ; avec un degré plus élevé les filtrats sont plus limpides mais l'activité est moindre.

On voit aussi que si l'on augmente le volume de solution pour un même poids d'échantillon, on ne gagne point en activité. Certainement, il doit exister un minimum dans le rapport du volume du dissolvant au poids du végétal, en dessous duquel le rendement en présure diminue.

* * *

L'étude des propriétés de la présure du chardon a été réalisée avec des liqueurs obtenues d'après la technique suivante :

100 gr. de matière sèche sont mis en contact avec l'éther de pétrole pendant 2-3 jours. On filtre sur papier et on lave à l'éther. La

matière sèche est broyée dans un petit moulin. La poudre résultante est agitée avec 500 cm³ d'eau alcoolique à 20% et laissée en macération pendant 2 jours ; enfin on la filtre sous vide.

La liqueur ainsi obtenue est limpide, de couleur caramel, d'un $pH = 4,7-4,8$; son activité est d'environ 1 : 800 par centimètre cube de liqueur et, rapporté à la fleur sèche originelle, 1 : 3.900. Sa conservation est assez bonne ; dans un récipient débouché souvent afin de prendre des échantillons, son activité reste pratiquement invariable pendant quelques 40 jours ; ensuite la liqueur commence à devenir trouble, son activité diminue et l'on observe des colonies de moisissures. Cette liqueur contient 0 gr. 10% de sucre total et 0 gr. 20% de tannin.

La liqueur évaporée à sec laisse un résidu, de couleur caramel foncé, complètement soluble dans l'eau. Le poids de ce résidu représente environ 6% de la liqueur et son activité, par unité de poids, est de 1 : 13.000.

Concentration du produit actif.

a) *Par précipitation à l'alcool.* — En portant la liqueur à 75-80% d'alcool, on sépare un précipité qui, une fois sec, est de couleur brun foncé, cassable, et d'une activité de 1 : 36.000 ; mais cette opération fait perdre une grande partie de l'activité car le précipité sec a seulement 1/5 de l'activité de la solution. Ce précipité est pratiquement insoluble dans l'éther éthylique, l'alcool méthylique, l'acétone, le chloroforme. Il se redissout dans l'eau, et la solution reste limpide après ébullition. Le contact prolongé avec l'alcool lui fait perdre sensiblement son activité ; au bout de 3 jours, elle est réduite à la moitié.

Bien que l'activité du précipité soit relativement élevée, le rendement est plutôt faible ; avec 100 gr. de fleur sèche on n'obtient que 2 gr. de précipité sec.

b) *Par dialyse.* — En dialysant la liqueur alcoolique dans un dialyseur à parchemin, contre l'eau courante, au bout de 2 jours la liqueur dialysée a perdu 60% de son résidu sec ; cependant, l'activité par unité de volume de la liqueur reste constante.

Donc, une liqueur d'activité 1 : 800, qui donne un résidu sec de 6,2% avec une activité 1 : 13.000, se concentre après une dialyse de 2 jours jusqu'à 1 : 32.000. Si l'on dialysait plus à fond, on atteindrait facilement l'activité des présures animales du commerce.

PROPRIÉTÉS DE LA PRÉSURE DU CHARDON

L'étude des propriétés de cette enzyme s'est rapportée surtout à l'observation de son activité coagulante, sur le lait (écrémé) ou sur le complexe caséinate de Ca — phosphate de Ca, et de son comportement vis-à-vis de certains agents.

L'activité coagulante des solutions de présure a été déterminée en mesurant le temps écoulé depuis la mise de la présure dans le lait ou le complexe jusqu'à l'instant où la coagulation commence.

Le point de coagulation a été déterminé en suivant les variations de la viscosité [1]. Nous considérons cette opération comme très délicate puisque les erreurs commises peuvent altérer fortement les résultats. Nous avons employé à cet effet le viscosimètre de M. BERRAZ simplifié selon la figure n° 1 :

le système mobile est constitué par un tube vertical en bronze T qui peut tourner entre deux roulements à billes C₁ et C₂, lesquels sont fixés à un support R. Le récipient dans lequel on verse l'échantillon de lait est réuni au système mobile au moyen d'un couplement normal en verre E. Le système reçoit le mouvement d'un moteur, à vitesse constante, M. Le fil de torsion H (fil de cuivre de 0 mm. 1) est attaché au bouchon K et, à son extrémité inférieure, on trouve un petit crochet G auquel on pend la pièce en verre B, lestée avec du mercure. Cette pièce doit être parfaitement centrée par rapport au récipient V. Le fil H porte une aiguille en verre A, se déplaçant sur un disque horizontal, gradué en 100 divisions. Cet appareil est facile à construire dans le laboratoire.

Nous avons constaté qu'un déplacement de l'aiguille de 50 divisions correspond à la viscosité que nous avons considérée équivalente au point de coagulation [2].

La technique que nous avons utilisée pour déterminer le temps de coagulation est la suivante :

Le lait ou le complexe est conservé dans un récipient thermo à 10-12° C. Le volume nécessaire à chaque essai est mesuré toujours avec la même pipette, versé dans un tube à essais et placé dans un bain-marie dont la température est de 1 à 2° supérieure à celle de l'expérience. Quand cette température est atteinte, on ajoute la présure, mesurée exactement avec une pipette capillaire de 1 cm³ graduée au 1/10, en la faisant couler contre la paroi du tube. Tout de suite on tourne le tube 2-3 fois et l'on verse dans le récipient V du viscosimètre, qui est aussi à la température de l'expérience.

Influence de la dilution.

En étendant des solutions de présure dans l'eau distillée, on a constaté que celle-ci perd une grande partie de son activité. Ce phénomène a été observé avec la présure végétale (chardon) aussi bien qu'avec la présure animale (caillette de veau).

Des solutions de présure végétale et animale, avec des activités du même ordre, sont portées exactement à des dilutions différentes. On mesure ensuite l'activité de ces solutions en ajoutant à des volumes égaux de lait, des quantités de présure équivalentes au témoin

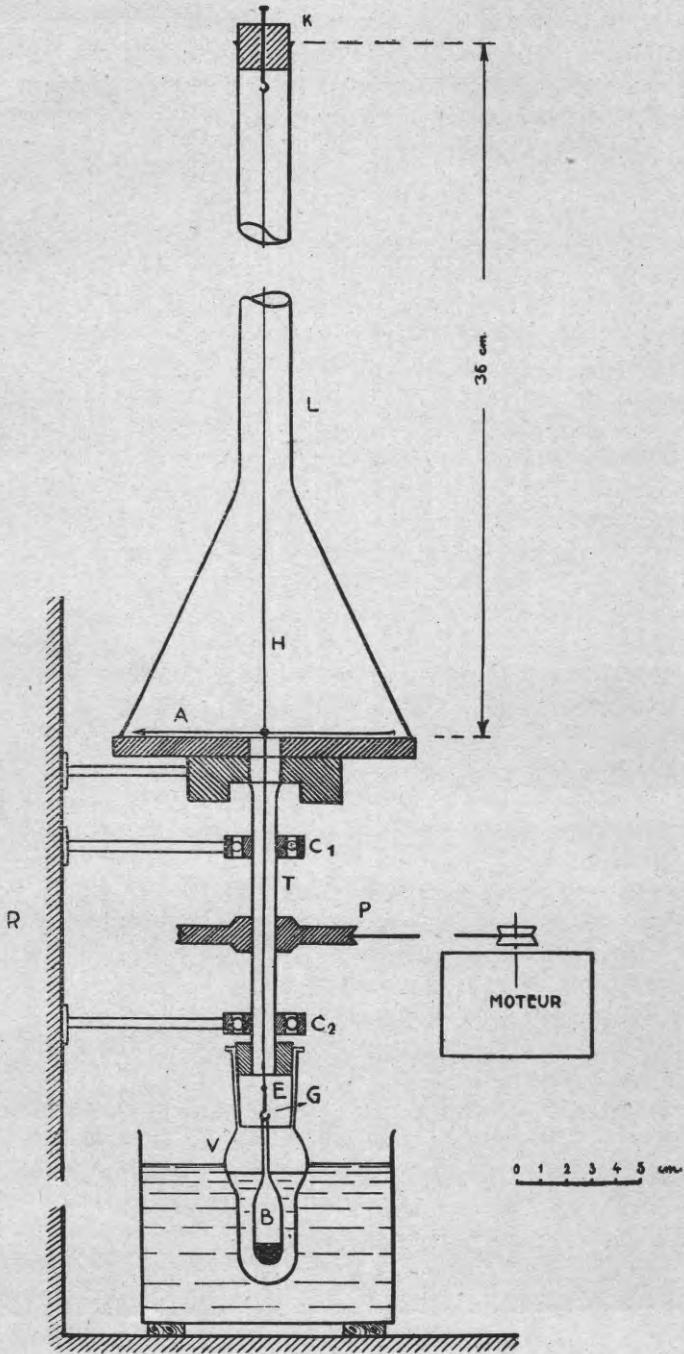


FIGURE I.

Présure végétale (1 : 930)				Présure animale (1 : 820)			
Dilution de la présure	Volume de présure dans 10 cm ³ de lait	Temps de coagulation	Acti- vité	Dilution de la présure	Volume de présure dans 10 cm ³ de lait	Temps de coagulation	Acti- vité
1/1	0,1 cm ³	6'26"	100%	1/1	0,1 cm ³	7'14"	100%
1/2	0,2 cm ³	6'45"	95%	1/2	0,2 cm ³	7'53"	92%
1/5	0,5 cm ³	7'3 "	91%	1/5	0,5 cm ³	9'41"	75%
1/10	1,0 cm ³	7'47"	83%	1/10	1,0 cm ³	26'11"	28%

Ainsi, si on étend une solution de présure végétale à la concentration employée, dans son volume d'eau, l'activité de la solution totale est réduite à 95% ; tandis qu'une dilution au 1/10 fait descendre cette activité à 83%.

Mais si l'inactivation est déjà appréciable avec cette présure, l'effet sur la présure animale est encore plus considérable : une dilution au 1/5 diminue l'activité de la solution à 75% ; diluée au 1/10 elle ne représente plus que 28% de l'activité originelle.

CAMUS et CLÉRY [3] ont observé un phénomène qui peut avoir un certain rapport avec cette expérience ; ils ont remarqué, en effet, que la résistance à la chaleur (40°) des solutions de présure devenait plus faible à mesure que la dilution était plus forte.

Cependant EFFRONT [4] croit que ces solutions étaient alcalines ou bien qu'elles contenaient une grande quantité de ferments protéolytiques étrangers, pouvant agir sur l'activité de la présure. Selon cet auteur, les présures du commerce ainsi que les macérations de caillettes de veau, ne présentent pas une sensibilité aussi marquée à l'égard des variations de la dilution.

D'après nos observations, on peut conclure que, dans toute expérience dans laquelle on emploie la présure à différentes dilutions, on commet des erreurs capables de fausser complètement les résultats.

Température optima de coagulation.

En général, les présures d'origine végétale peuvent agir à des températures plus élevées que celles d'origine animale, ce qui s'explique facilement, si l'on pense que les premières sont soumises à des températures plus variables, avec un maximum plus élevé que la température constante et relativement plus basse des animaux.

Si la présure de caillette de veau a son maximum d'activité à 41°, les présures végétales présentent leur plus grande activité à des températures capables de détruire complètement la présure animale citée.

En déterminant le temps de coagulation à des températures chaque fois plus élevées, d'un même volume de lait, avec une même quantité de présure du chardon dans tous les essais, nous avons obtenu les résultats suivants :

1° 12 cm³ de lait + 0 cm³ 2 de solution de présure 1 : 480

2° 15 cm³ de lait + 0 cm³ 1 de solution de présure 1 : 420

Température de l'expérience	Temps de coagulation	Température de l'expérience	Temps de coagulation
25°	1.015"	35°	873"
30°	525"	50°	336"
35°	298"	53°	315"
40°	210"	56°	286"
45°	166"	59°	264"
50°	132"	62°	255"
55°	113"	65°	232"
60°	108"	68°	227"
		69°	251"
		70°	266"
		71°	360"

Dans la figure n° 2, la courbe 1 représente les variations de l'activité en fonction de la température d'emprésurage correspondant aux variations de 25° à 60° C tandis que la courbe 2 correspond à des variations de 50° à 71° C.

Dans la courbe 2, on voit que la température optima de coagu-

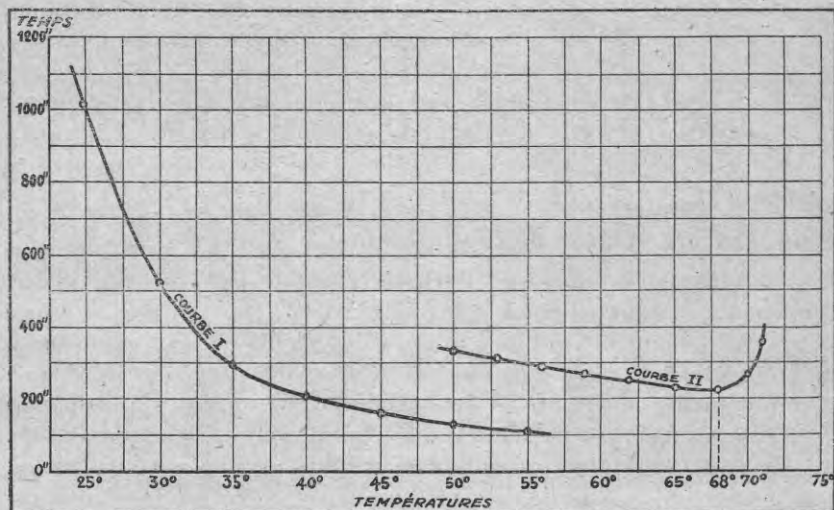


FIGURE 2.

lation se trouve aux environs de 68° C. ; mais, cette valeur doit être considérée seulement comme approchée car sa détermination est incertaine. En effet, à mesure que la température de l'essai augmente, le point de coagulation devient plus difficile à préciser ; dès 60° C., les flocons se contractent, expulsant le sérum à l'instant de sa formation, une gélification nette n'ayant pas lieu. D'ailleurs, à des températures élevées, le lait emprésuré perd par évaporation une certaine quantité d'eau, modifiant sa concentration, ce qu'on ne peut pas empêcher en bouchant le récipient, puisque la vapeur qui se condense sur les parois forme une couche d'eau à la surface du lait emprésuré.

(A suivre.)

UNE TECHNIQUE SIMPLE PERMETTANT L'ANALYSE COMPLÈTE DU LAIT DANS UN ÉCHANTILLON ASSEZ RÉDUIT DE CE LIQUIDE

par

R. VLADESCO

Professeur

Laboratoire de Chimie biologique,

Faculté de Médecine vétérinaire de Bucarest.

Le dosage des différents constituants du lait se fait ordinairement sur des prises d'essai isolées de ce liquide. Cela est possible toutes les fois que la quantité de lait dont on dispose est suffisamment grande.

Sans préjuger quant à la légitimité de cette manière de procéder, il est évident qu'elle présente des inconvénients sérieux lorsque la quantité de lait disponible est réduite.

Cela, parce que, dans ce cas, on est obligé de recourir aux micro-méthodes dont l'application demande des soins multiples et minutieux, faute de quoi on est exposé à commettre des erreurs grossières.

Il est infiniment préférable, par conséquent, de séparer les constituants de la même prise d'essai du lait à analyser et de les doser ensuite. Des techniques remplissant ce desideratum ont été préconisées plusieurs fois (1) (2), et leur nombre doit être à coup sûr plus important que celui que nous connaissons.

La technique que nous proposons et dont les détails sont exposés dans cette note, sans être plus compliquée que celles sur lesquelles nous sommes documentés, présente l'avantage de permettre une analyse assez complète de lait.

(1) PELLERIN. Formulaire chimique des laboratoires modernes, 1927.

(2) TRIFON UGARTE. Nouvelle méthode d'analyse du lait sur un centimètre cube. *Annales des falsifications et des fraudes*, n° 272-273, p. 402, 1931.