



**HAL**  
open science

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES CONDITIONS DE LA REACTIVATION DE LA PHOSPHATASE ALCALINE DANS LES CRÈMES PASTEURISÉES

Do Ngoc-Cu, J. Lenoir, R. Veisseyre

► **To cite this version:**

Do Ngoc-Cu, J. Lenoir, R. Veisseyre. CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES CONDITIONS DE LA REACTIVATION DE LA PHOSPHATASE ALCALINE DANS LES CRÈMES PASTEURISÉES. *Le Lait*, 1965, 45 (447), pp.387-412. <hal-00928387>

**HAL Id: hal-00928387**

**<https://hal.science/hal-00928387v1>**

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

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE  
DES CONDITIONS DE LA RÉACTIVATION  
DE LA PHOSPHATASE ALCALINE  
DANS LES CRÈMES PASTEURISÉES (1)**

par

DO NGOC-CU, J. LENOIR et R. VEISSEYRE

*Laboratoire de Recherches de la Chaire de Technologie  
et de Microbiologie,  
Ecole nationale supérieure agronomique, Grignon (Seine-et-Oise)*

**Sommaire**

Sur des échantillons de crème pasteurisée à haute température (80 à 95° C) pendant des temps courts (15 à 20 secondes) une réactivation de la phosphatase alcaline se manifeste nettement. Les conditions de cette réactivation sont étudiées et discutées. Trois facteurs sont particulièrement déterminants : la température et la durée du chauffage, les conditions de conservation et l'acidité de la crème.

Ainsi, une différence notable dans l'intensité de la réactivation est constatée selon que la pasteurisation est réalisée à 80° C pendant 30 secondes ou à 90° C pendant 20 secondes bien que ces deux modes de chauffage exercent sur la phosphatase alcaline de la crème un effet inactivateur sensiblement équivalent. L'intensité du phénomène est également influencée par la température et la durée de conservation. L'intensité maximum se situe à une température voisine de 30° C. A cette température, la réactivation est déjà très sensible après un temps de conservation de 12 heures. A basse température (4° C ou même 11° C), la réactivation ne se manifeste que très discrètement. Enfin, l'acidité de la crème exerce une action nettement inhibitrice ; lorsqu'elle atteint 4 à 4,5 g d'acide lactique par litre, la réactivation présente une intensité faible ou nulle.

Ces observations ont des incidences pratiques importantes. En effet, les conditions usuelles de traitement industriel des crèmes pasteurisées ne semblent pas favorables à l'apparition du phénomène de réactivation.

---

(1) *Annales de Technologie agricole*, 1964, 13 (4), 377-397.

## I. — Introduction

L'épreuve de la phosphatase alcaline a été et est encore souvent utilisée en France pour contrôler l'efficacité de la pasteurisation des crèmes. Or, des anomalies ont été signalées dans les résultats obtenus. Des produits, dont la phosphatase a été inactivée par une pasteurisation correctement conduite, présentent parfois, après une conservation de courte durée, une réaction positive. Ces anomalies sont analogues à celles qui ont été signalées sur le lait soumis à un traitement à haute température du type UHT.

De nombreux travaux ont été déjà réalisés en vue de préciser les conditions dans lesquelles apparaît la réactivation de l'enzyme dans le lait et la crème. Les facteurs suivants ont été plus particulièrement étudiés :

— *La teneur en matière grasse* (Posthumus, 1952 ; Wright et Tramer, 1953 *b*, 1954 ; Fram, 1957 ; Eddleman et Babel, 1958).

— *La température et le temps de chauffage* (Brown et Ellicker, 1942 ; Posthumus, 1952 ; Ritter, 1953 ; Wright et Tramer, 1953 *a*, 1953 *b*, 1954 ; Wright, 1956 ; Fram, 1957 ; Eddleman et Babel, 1958 ; Hansson, 1961 ; Lyster et Aschaffenburg, 1962).

— *La température et le temps de conservation* (Barber, 1942 ; Brown et Ellicker, 1942 ; Barber et Frazier, 1943 ; Posthumus, 1952 ; Wright et Tramer, 1953 *a*, 1954 ; Wright, 1956 ; Scholz, 1956 ; Fram, 1957 ; Eddleman et Babel, 1958 ; Paschke, 1958 *a* ; Mickle, Diab et Olson, 1960 ; Hansson, 1961) ;

— *L'acidité* (Sjöström, 1943, 1944 ; Paschke, 1958 *b* ; Usseglio-Tomasset, 1961) ;

— *La présence d'activateurs et d'inhibiteurs* (Ritter, 1953 ; Wright et Tramer, 1956 ; Rapport Reading, 1959 ; McFarren et *al.*, 1960 ; Hansson, 1961 ; Lyster et Aschaffenburg, 1962).

Plusieurs auteurs ont tenté d'expliquer le processus de la réactivation de la phosphatase. Les uns font appel au développement d'enzymes d'origine microbienne (Brown, 1940 ; Haller, Babcock et Ellis, 1941 ; Barber, 1942 ; Buck, 1942 ; Barber et Frazier, 1943). Les autres suggèrent des modifications réversibles dans la structure de l'enzyme initiale (Wright et Tramer, 1953 *b* ; Rapport Reading, 1959 ; Hansson, 1961), la réversibilité pouvant être liée à la présence de certains composés réducteurs (rapport Reading, 1959 ; Hansson, 1961 ; Wright et Tramer, 1953 *b*). Enfin d'autres chercheurs attribuent le phénomène à la présence d'enzyme résiduelle qui, protégée par la phase grasse, échapperait à l'inactivation thermique et diffuserait dans la crème après pasteurisation (Wiley, Newman et Whitehead, 1941 ; Simonart et Huberlant, 1956).

De tous ces travaux, dont les résultats ne sont pas toujours concordants, il ressort que des incertitudes peuvent planer sur

l'interprétation des résultats de l'épreuve de la phosphatase appliquée au contrôle de la pasteurisation de la crème. C'est pourquoi nous nous sommes proposés d'apporter une contribution à la connaissance d'un phénomène dont les prolongements industriels sont importants.

## II. — Méthodes expérimentales et matériel utilisé

### A. — Détermination de l'activité phosphatasique

L'activité phosphatasique est déterminée par la méthode d'Aschaffenburg et Mullen (1949). Après deux heures d'incubation à 37° C en présence de paranitrophénylphosphate disodique en solution tamponnée à pH 9,8-10, le mélange crème-substrat est déféqué à l'acide trichloracétique. Le filtrat est alcalinisé et l'intensité de coloration est lue au photomètre de Blet à 425 m $\mu$ . L'activité phosphatasique est traduite en  $\mu$ g de paranitrophénol libéré par ml de crème à l'aide d'une courbe d'étalonnage. Cette courbe a été établie à partir de solutions de paranitrophénol dans la crème

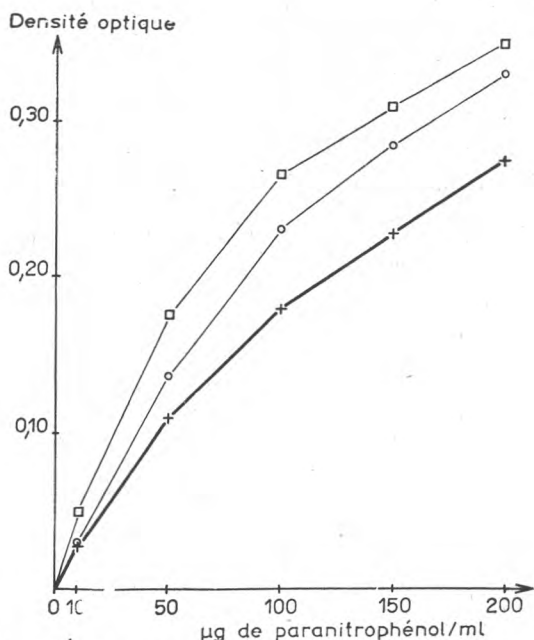


Fig. 1. — Courbe étalon pour le dosage du paranitrophénol

Influence de l'agent de dilution sur l'intensité de coloration du paranitrophénol en milieu alcalin :

paranitrophénol en solution	dans la crème	+ ——— +
	dans le lait	○ ——— ○
	dans l'eau	□ ——— □

En abscisses : concentration en paranitrophénol exprimée en  $\mu\text{g/ml}$   
 En ordonnées : Intensité de coloration exprimée en densité optique.

<i>Agents de dilution</i>	<i>Densité optique (Solution à 50 <math>\mu\text{g}</math> de paranitro- phénol par ml)</i>
Eau	0,16
Lait écrémé	0,15
Lait entier	0,14
Crème	0,11

pasteurisée 45 mn à 65° C. Nous avons en effet relevé des différences d'intensité de coloration selon que le paranitrophénol est en solution dans l'eau, dans le lait ou dans la crème (fig. 1). Ces différences s'expliquent vraisemblablement par une fixation d'une partie du colorant sur les matières grasses et les protéines, plus particulièrement semble-t-il sur les matières grasses comme l'indiquent les résultats suivants obtenus avec divers agents de dilution.

Nous avons toutefois constaté que les résultats sont très peu influencés par la richesse en matière grasse de l'agent de dilution lorsque celle-ci varie de 35 à 55 p. 100.

## B. — Dispositif expérimental

La crème fraîche contenant 40-50 p. 100 de matière grasse et provenant du lait de mélange de 50 vaches de race *Française Frisonne Pie-Noire* de la ferme expérimentale de Grignon, est placée dans des tubes stériles de verre mince calibrés (4 mm de diamètre intérieur). Un préchauffage est réalisé en plongeant les tubes pendant 5 minutes dans un bain-marie réglé à 50° C. Ce préchauffage n'entraîne aucune diminution de l'activité phosphatasique de l'échantillon. La pasteurisation est ensuite effectuée par immersion des tubes, pendant un temps déterminé, dans un second bain-marie réglé à la température choisie. Ensuite, les tubes sont immédiatement plongés dans un bain d'eau glacée.

Le contenu de chaque tube (environ 3 ml) est alors introduit aseptiquement dans un tube à essai stérile de 16 x 160 et maintenu à la température choisie pendant un temps déterminé. Après incubation, l'activité phosphatasique de l'échantillon est déterminée sur une prise d'essai de 2 ml.

## C. — Etalonnage du dispositif de chauffage

Le dispositif adopté présente une certaine inertie thermique. Dans les conditions précisées, nous avons déterminé les modalités du chauffage qui entraînent l'inactivation de la phosphatase

alcaline du lait et de la crème (fig. 2). Cet étalonnage du matériel de pasteurisation a permis d'adopter, au cours des essais, des conditions de chauffage, traduites par des combinaisons température-temps, d'efficacité sensiblement équivalente vis-à-vis de l'inactivation de la phosphatase.

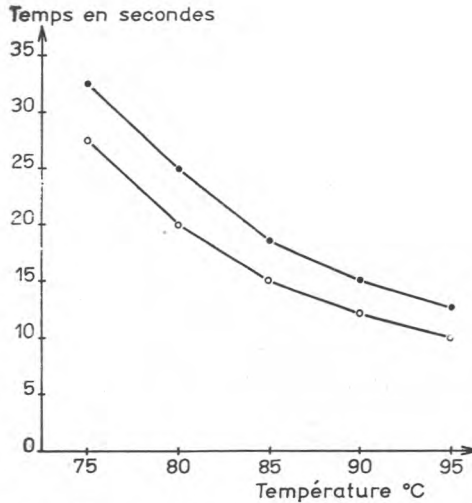


Fig. 2. — Courbes d'inactivation thermique de la phosphatase alcaline  
 dans le lait ○ — ○  
 dans la crème ● — ●

Le dispositif expérimental est le suivant : le produit est placé dans des tubes de verre de 4 mm de diamètre intérieur, préchauffé au bain-marie à 50° C, puis porté à la température choisie pendant un temps déterminé par immersion dans un bain-marie réglé à cette température ; le contenu des tubes est ensuite immédiatement refroidi par immersion dans un bain d'eau glacée.

En abscisses : température du bain de chauffage en degrés C.

En ordonnées : temps d'immersion dans le bain en secondes.

### III. — Résultats

#### A. — Reproductibilité et intensité du phénomène

Une étude des facteurs qui conditionnent la réactivation ne peut être interprétée que si l'intensité du phénomène est reproductible.

En vue d'apprécier la reproductibilité des résultats, quatre échantillons de crème, récoltés à des jours différents, sont pasteurisés 20 secondes à 90° C, puis conservés 3 jours à 30° C. Sur chaque échantillon, dix essais sont réalisés dans les conditions expérimentales définies. Le tableau 1 groupe les résultats : intensité

moyenne de réactivation, caractéristiques de dispersion, valeur probable de la moyenne calculée selon la méthode Student-Fisher.

Ces données montrent que, pour un même échantillon de crème, les intensités de réactivation présentent, d'un essai à l'autre, une certaine dispersion bien que les conditions de chauffage et de conservation de chaque essai soient rigoureusement identiques ; les valeurs trouvées restent cependant du même ordre de grandeur. Ces constatations nous ont conduits à adopter, pour toutes les déterminations, un mode opératoire comportant la mise en œuvre de cinq essais consécutifs. On remarque en outre que, d'un échantillon de crème à l'autre, toutes conditions de traitement étant par ailleurs égales, les intensités de réactivation sont sensiblement différentes.

Il ne semble pas que les différences ainsi observées puissent être reliées à certaines caractéristiques de la crème telles que son acidité, sa richesse en matière grasse ou son activité phosphatasique originelle. Plus vraisemblable est l'intervention de la flore microbienne de la crème pasteurisée : flore résiduelle ou flore de contamination post-opératoire. En effet, des essais d'orientation, portant soit sur des échantillons de crème différents, soit sur un même échantillon de crème, révélaient des intensités de réactivation beaucoup plus dispersées que celles du tableau 1. Elles variaient non plus dans le rapport 1 à 1,5 comme dans le tableau 1 mais dans le rapport 1 à 5. Or, ces premiers essais ne comportaient pas l'uti-

TABLEAU I

REPRODUCTIBILITÉ ET INTENSITÉ DE LA RÉACTIVATION  
DE LA PHOSPHATASE ALCALINE

(Activités phosphatasiques exprimées en  $\mu\text{g}$  de paranitrophénol par ml de crème)

Echantillon N°	Caractéristiques de la crème crue			Intensité de réactivation			
	Acidité (g d'acide lactique par litre)	Matière grasse (g pour 100 g)	Activité phosphatasique (dilution au 1/50)	Moyenne M	Ecart-type	Coefficient de variation	M probable t (95)
I	1,6	53	210	338	84,6	0,25	279-397
II	1,3	42	140	170	25	0,14	154-186
III	1,4	55	170	253	28,1	0,11	235-271
IV	1,4	51	125	315	44,3	0,14	283-347

lisation d'une verrerie stérile et, dans ces conditions, la population microbienne des échantillons à l'essai pouvait être assez différente par sa nature et son importance. L'irrégularité des intensités de réactivation pouvait alors être attribuée à l'action de micro-organismes capables soit d'élaborer des phosphatases, soit de perturber la réactivation de l'enzyme.

L'élaboration de phosphatases par la flore résiduelle de la crème pasteurisée (essentiellement constituée par des *Bacillus*, des *Micrococcus* et quelques bactéries lactiques) ne semble pas devoir être retenue. En effet, les essais comportant l'ensemencement d'une crème stérilisée, 20 minutes à 120° C, avec une culture sur lait de la flore d'une crème pasteurisée, 30 secondes à 90° C, ont toujours conduit à des activités phosphatasiques nulles ou très faibles, même après des durées d'incubation de 10 jours à 30° C (tableau II).

TABLEAU II  
ACTIVITÉ PHOSPHATASIQUE  
DE LA MICROFLORE RÉSIDUELLE DE LA CRÈME PASTEURISÉE  
(Activités exprimées en  $\mu\text{g}$  de paranitrophénol par ml de crème)

		Temps d'incubation				
		0	24 h	3 j	7 j	10 j
I	Témoin stérile . . . . .	0	1	1	1	1
	Ensemencement 1%	1	1,5	1	2,5	2,5
	Ensemencement 10%	0,5	2	1	3,5	3
II	Témoin stérile . . . . .	0	1	0	2	3
	Ensemencement 1%	0	2	6	5	6
	Ensemencement 10%	0	2	6	2	4

L'hypothèse de la perturbation de la réactivation par l'action des microorganismes a été vérifiée en inhibant le développement microbien dans la crème pasteurisée au cours de sa conservation. A cet effet, nous avons essayé divers antibiotiques, seuls ou associés. En accord avec des travaux antérieurs (Wright et Tramer, 1953 a) nous avons constaté que le phénomène de la réactivation n'est nullement contrarié par cette addition. En outre, les résultats obtenus sur plusieurs échantillons d'une même crème sont nettement plus groupés en présence d'antibiotiques; les activités phosphatasiques résultant de la réactivation ne varient plus que dans les limites de 1 à 1,5. L'influence de l'activité microbienne sur l'intensité de la réactivation pourrait alors s'expliquer soit par le

caractère protéolytique des germes présents qui seraient susceptibles de dégrader l'élément protéique de la phosphatase (Sanders et Sager, 1949), soit par leur caractère acidifiant, un *pH* bas inhibant sensiblement la réactivation de l'enzyme (Sjöström, 1943, 1944).

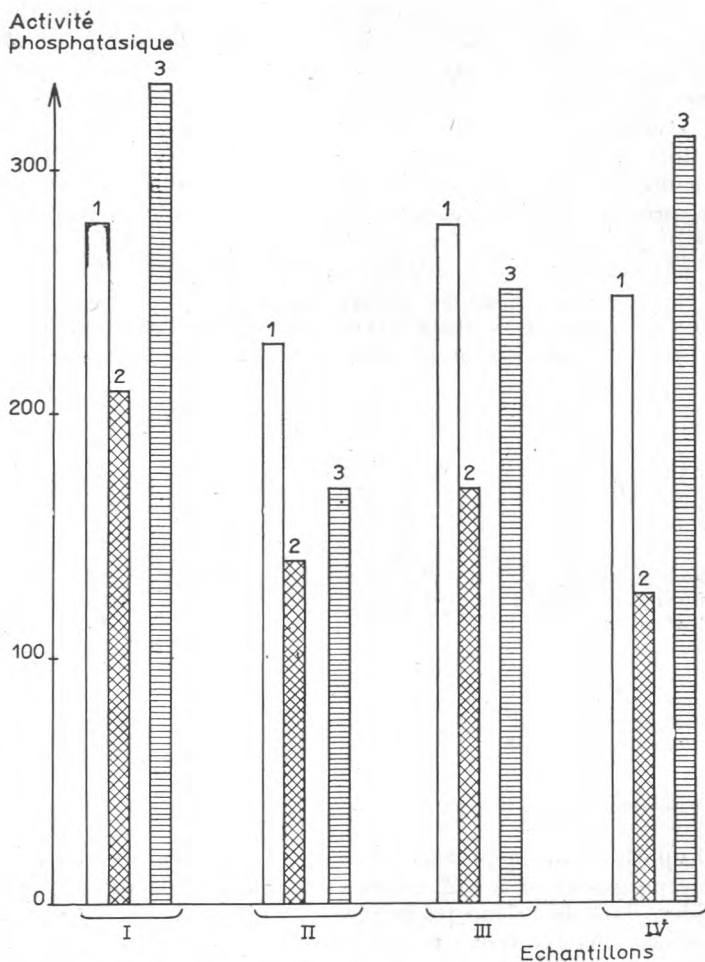


Fig. 3. — Activités comparées de la phosphatase alcaline originelle et de l'enzyme « réactivée »

Activité phosphatasique exprimée en  $\mu\text{g}$  de paranitrophénol libéré par ml de produit.

1 : lait cru dilué au 1/10.

2 : crème crue diluée au 1/50.

3 : crème pasteurisée 20 secondes à 90° C et conservée 3 jours à 30° C.

Nous n'avons cependant pas retenu, pour l'ensemble des essais, cette addition d'antibiotique afin de nous placer dans des conditions de milieu aussi proches que possible de celles de la pratique. Toutefois, afin d'éviter l'interférence de la flore de contamination post-opératoire, responsable en majeure partie de l'irrégularité des premiers résultats, nous avons utilisé du matériel stérile. Nous avons ainsi réduit notablement (tabl. 1) la dispersion des résultats. La répétition en quintuple de tous les essais devait en outre nous procurer une sécurité suffisante pour aborder l'étude des conditions de la réactivation.

L'intensité du phénomène de réactivation apparaît déjà à l'examen des chiffres du tableau 1. Elle peut être appréciée encore plus clairement si l'on compare les activités de la phosphatase originelle dans le lait et dans la crème à l'activité de la phosphatase « réactivée » dans la crème pasteurisée 20 secondes à 90° C et conservée 3 jours à 30° C (fig. 3). On remarque que cette activité est sensiblement égale au 1/10 de l'activité phosphatasique du lait cru. L'intensité du phénomène peut donc atteindre des valeurs très notables.

## B. — Influence des conditions de chauffage

### 1° Influence de la température

Quatre échantillons de crème sont portés pendant 30 secondes aux températures de 80, 90, 95° C, puis incubés 3 jours à 30° C.

TABLEAU III

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE DE CHAUFFAGE  
SUR L'INTENSITÉ DE LA RÉACTIVATION

(Activités phosphatasiques exprimées en pourcentages relatifs)

Echantillon N°	Température de chauffage (1)		
	80° C	90° C	95° C
I	75	100	97
II	67	100	99
III	57	100	96
IV	85	100	96

(1) Temps de chauffage : 30 secondes.

Les résultats, exprimés en pourcentages relatifs d'activité phosphatasique dans le tableau III, montrent que les intensités de réactivation sont maxima et sensiblement égales après pasteurisation aux températures de 90 à 95° C. A la température de 80° C, correspond une intensité de réactivation nettement moins élevée. Toutefois, l'amplitude des variations est différente d'un échantillon à l'autre.

### 2° Influence du temps

Quatre échantillons de crème sont pasteurisés à 90° C pendant 20, 30, 40 et 60 secondes puis conservés à l'étuve 3 jours à 30° C. Les résultats montrent que l'intensité de réactivation maximum correspond au temps de pasteurisation le plus court (20 secondes) et qu'elle diminue progressivement lorsque croît la durée du chauff-

TABLEAU IV

INFLUENCE DU TEMPS DE CHAUFFAGE SUR L'INTENSITÉ DE LA RÉACTIVATION  
(Activités phosphatasiques exprimées en pourcentages relatifs)

Echantillon N°	Temps de chauffage en secondes (1)			
	20	30	40	60
I	100	89	78	67
II	100	82	68	65
III	100	93	76	68
IV	100	73	58	53

(1) Température de chauffage : 90° C.

fage (tabl. IV). Là encore on relève, d'un échantillon à l'autre et pour des traitements identiques, des pourcentages relatifs d'activité inégaux. Si on affecte à l'intensité de réactivation maximum (temps 20 secondes) la valeur 100, on note, pour un temps de pasteurisation de 30 secondes, des valeurs variant de 73 à 93 et, pour un temps de 60 secondes, de 53 à 68.

### 3° Influence de la combinaison temps $\times$ température.

A l'aide de la courbe d'inactivation de la phosphatase alcaline dans la crème, établie avec notre dispositif de pasteurisation (fig. 2),

nous avons défini trois combinaisons temps  $\times$  température d'efficacité sensiblement équivalente vis-à-vis de l'inactivation de la phosphatase : 30 secondes-80° C, 20 secondes-90° C, 15 secondes-95° C. Les échantillons de crème sont pasteurisés dans ces conditions puis conservés 3 jours à 30° C. Le tableau V rend compte des intensités de réactivation observées.

TABLEAU V  
INFLUENCE DE LA COMBINAISON TEMPS  $\times$  TEMPÉRATURE  
SUR L'INTENSITÉ DE LA RÉACTIVATION  
(Activités phosphatasiques exprimées en pourcentages relatifs)

Echantillon N°	Combinaison temps $\times$ température		
	80° C/30 s	90° C/20 s	95° C/15 s
I	58	105	100
II	59	76	100
III	47	85	100
IV	49	94	100

Comme le laissent prévoir les essais précédents, on note qu'un chauffage à température élevée, maintenu pendant un temps court, favorise la réactivation. Des différences importantes dans l'intensité de celle-ci sont notamment constatées selon que le chauffage est réalisé à 80° C pendant 30 secondes ou à 90° C pendant 20 secondes et 95° C pendant 15 secondes. Ces deux dernières combinaisons s'accompagnent d'intensités de réactivation voisines.

### C. — Influence des conditions de conservation

#### 1° Influence de la température

Après pasteurisation 20 secondes à 90° C, cinq échantillons de crème sont conservés pendant trois jours aux températures suivantes 3-4° C, 10-12° C, 20° C, 30° C et 37° C. Le tableau VI rend compte des résultats. On remarque que la réactivation est très faible, sinon nulle, après incubation aux températures de 3-4° C et de 10-12° C. A ces températures, l'activité phosphatasique

TABLEAU VI

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE DE CONSERVATION  
SUR L'INTENSITÉ DE LA RÉACTIVATION

(Activités phosphatasiques exprimées en pourcentages relatifs)

Echan- tillon N°	Température de conservation (1)				
	4° C	11° C	20° C	30° C	37° C
I	0,8	2,3	19	100	86
II	1,0	2,3	19,6	100	81
III	0,4	1,4	16	100	110
IV	1,8	1,9	37,5	100	68
V	1,8	2,1	16,6	100	80

(1) Temps de conservation : 3 jours.

développée après 3 jours de conservation ne peut être considérée comme significative, les quantités de paranitrophénol libéré étant inférieures à 10  $\mu\text{g}$  par ml de crème. A 20° C, par contre, une activité phosphatasique notable (50 à 75  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) se développe dans la crème pasteurisée. Toutefois, c'est à 30° C et 37° C que l'intensité de la réactivation atteint les valeurs les plus importantes, le maximum se situant aux environs de 30° C.

### 2° Influence du temps

Cinq échantillons de crème sont pasteurisés 20 secondes à 90° C puis conservés à la température de 30° C pendant 12 heures, 21 heures, 44 heures et 3 jours. On constate une augmentation progressive et assez régulière de l'intensité de réactivation qui atteint déjà des valeurs appréciables et significatives (50 à 75  $\mu\text{g}$  de paranitrophénol par ml) après 12 heures d'incubation (tabl. VII).

TABLEAU VII  
 INFLUENCE DU TEMPS DE CONSERVATION  
 SUR L'INTENSITÉ DE LA RÉACTIVATION  
 (*Activités phosphatasiques exprimées en pourcentages relatifs*)

Echan- tillon N°	Temps de conservation à 30° C				
	0 h	12 h	21 h	44 h	3 jours
I	0	23	44	60	100
II	0,5	32	37	75	100
III	1,3	33	57	79	100
IV	1,4	22	32	66	100
V	0	27	58	78	100

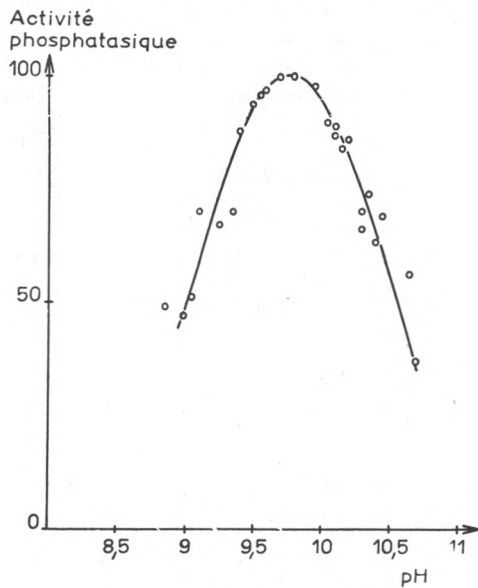
#### D. — Influence de l'acidité

Les essais précédents montrent que les combinaisons temps-température appliquées dans l'industrie peuvent permettre une réactivation notable de la phosphatase dans les crèmes pasteurisées. Cependant, nos conditions expérimentales ne s'identifient pas aux modalités usuelles de traitement industriel des crèmes. Celui-ci comporte, après pasteurisation, un ensemencement des crèmes avec un levain lactique, puis une maturation. Il s'ensuit une acidification du milieu qui passe de 1-1,2 g à 3,5-4 g d'acide lactique par litre. Or, l'on sait que l'acidité exerce une influence sur la réactivation de l'enzyme (Paschke, 1958 *b* ; Usseglio-Tomasset, 1961).

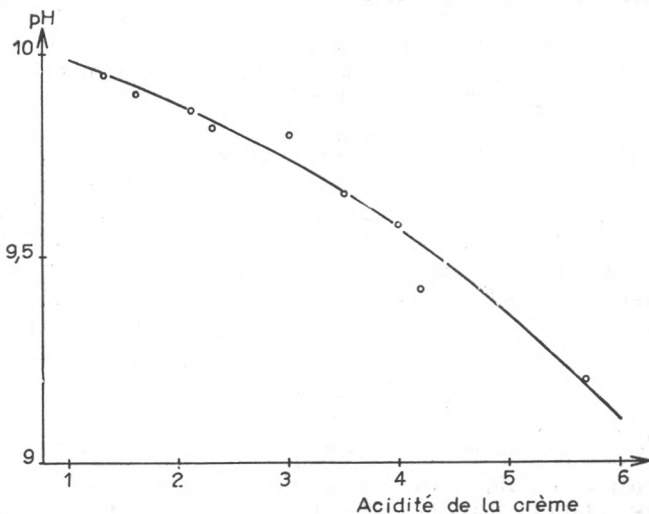
Ce facteur peut agir selon deux processus différents. Il peut soit modifier l'activité de la phosphatase alcaline, originelle et « réactivée », soit perturber le mécanisme de la réactivation.

##### 1° Influence sur l'activité de la phosphatase alcaline originelle

Le *pH* optimum d'activité de l'enzyme est compris entre 9,8 et 10 (Sanders, 1949). En faisant varier le *pH* du tampon, nous avons constaté que l'activité phosphatasique d'une crème crue fraîche présente un maximum entre *pH* 9,6 et *pH* 10 et que, de part et d'autre de cette zone de *pH*, l'activité enzymatique est fortement réduite (fig. 4).



*Fig. 4.* — Influence du pH sur l'activité de la phosphatase alcaline originelle.  
 En abscisses : pH du mélange réactionnel.  
 En ordonnées : activité phosphatasique exprimée en pourcentage relatif de paranitrophénol libéré par ml de crème.



*Fig. 5.* — Influence de l'acidité de la crème sur le pH du mélange réactionnel.  
 En abscisses : acidité exprimée en grammes d'acide lactique par litre.  
 En ordonnées : pH du mélange réactionnel.  
 Note. Lire le point manquant sur le graphique, dont les ordonnées sont :  
 pH 9,40 et acidité 5.

L'acidité du milieu peut donc intervenir en réglant le  $pH$  du mélange réactionnel à une valeur inférieure à cet optimum lors de l'incubation. Pour éliminer cette cause d'erreur il importait de vérifier qu'une acidité même élevée de la crème, ne modifie pas le  $pH$  du mélange, ou ne le modifie que dans une faible mesure, sans effet appréciable sur l'activité de la phosphatase. La figure 5 montre que, si l'acidité de la crème dépasse 4 g d'acide lactique par litre, le  $pH$  du mélange réactionnel est inférieur à 9,6. En mettant en œuvre des crèmes titrant 4 à 6 g d'acide lactique par litre, on peut donc prévoir qu'une fraction seulement de l'activité phosphatasique réelle sera mise en évidence, fraction d'autant plus faible que l'acidité est plus élevée. Pour réaliser, dans ces conditions, une détermination correcte, on peut soit modifier la composition du tampon, soit tenir compte des variations d'activité phosphatasique en fonction du  $pH$  du mélange. C'est cette dernière méthode que nous avons adoptée, compte tenu du faible nombre d'échantillons présentant une acidité supérieure à 4 g d'acide lactique par litre.

L'influence de l'acidité du milieu peut aussi se manifester directement. Divers travaux ont, en effet, mentionné une inhibition de l'activité phosphatasique dans les laits ou les crèmes acides (Bergman, 1941 ; Sjöström, 1943, 1944). Deux facteurs peuvent être à l'origine de cette inhibition : l'acidité et le temps pendant lequel elle exerce son action.

Afin de vérifier l'incidence éventuelle de ces deux facteurs nous avons pris quatre échantillons de crème crue différents A, B, C, D. Chaque échantillon, dilué au 1/50 avec une crème de même origine dont la phosphatase a été inactivée par chauffage à 65° C pendant 45 minutes, est réparti en cinq lots. Le premier constitue le témoin, les quatre autres sont acidifiés par addition de doses variables d'acide lactique. L'activité phosphatasique est déterminée sur chacun des lots au temps 0 et après 30 minutes, 2 heures, 6 heures et 21 heures de conservation à la température de 20° C.

Les résultats exprimés en pourcentages relatifs d'activité, sont groupés dans le tableau VIII. Les constatations suivantes peuvent être faites.

— Une acidité élevée (5 à 6 g d'acide lactique par litre) maintenue pendant un temps très court n'entraîne qu'une faible diminution de l'activité phosphatasique. Cette diminution ne paraît pas s'amplifier lorsque l'acidité croît.

— Pour une acidité donnée, le contact prolongé entre la crème et l'acide est à l'origine d'une inhibition marquée de l'activité phosphatasique originelle, inhibition d'autant plus nette que le contact est plus long.

— Pour un temps de contact donné, l'augmentation de l'acidité s'accompagne d'une inactivation progressive de l'enzyme.

TABLEAU VIII

INFLUENCE DE L'ACIDIFICATION DE LA CRÈME  
SUR L'ACTIVITÉ DE LA PHOSPHATASE ALCALINE ORIGINELLE  
(Activités exprimées en p. 100 de l'activité initiale)

Echan- tillons	Acidité (g d'acide lactique par litre)	Temps de contact				
		0	30 mn	2 h	6 h	21 h
A	1,2	100	98	80	71	70
	2,4	93	87	73	70	61
	3,5	86	78	55	37	11
	4,3	85	74	43	12	2
	4,9	68	61	16	3	1
B	1,3	100	101	83	97	92
	1,9	95	99	80	93	86
	3,4	86	81	71	73	62
	4,4	83	79	60	18	5
	5,9	89	73	30	1	0
C	1,4	100	96	70	70	71
	2,8	84	82	60	60	59
	3,6	83	68	43	31	16
	5,1	96	70	19	4	2
	5,8	82	35	—	0,5	1
D	1,2	100	98	80	74	74
	2,6	96	93	73	62	62
	3,8	93	80	52	29	14
	5,1	81	64	15	1	3
	6,7	94	45	1	0,2	0,5

Il apparaît ainsi que l'acidité n'intervient, pour modifier notablement l'activité de la phosphatase, que si son action sur le milieu est maintenue pendant un temps assez long. Dans l'étude de ce facteur il convient donc d'envisager la combinaison acidité  $\times$  temps et non l'acidité seule. On remarque que son influence sur l'activité enzymatique est particulièrement sensible. Une acidité supérieure ou égale à 4 g d'acide lactique par litre, maintenue pendant 2 heures ou plus, entraîne une réduction de cette activité de plus de 50 p. 100 de la valeur initiale. Lorsque l'acidité atteint une valeur proche de 5 g d'acide lactique par litre, l'activité phosphatasique de la crème crue diluée devient très faible, sinon nulle (moins de 20  $\mu$ g de paranitrophénol libéré par ml) après un temps de contact de 6 heures ou plus.

Cette inactivation de la phosphatase par l'acidité pourrait s'expliquer par une modification du support protéique de l'enzyme.

2° *Influence sur l'activité de la phosphatase alcaline « réactivée ».*

Le comportement de la phosphatase « réactivée » vis-à-vis de l'acidité doit s'identifier à celui de la phosphatase originelle si, comme certains travaux le suggèrent, elles sont l'une et l'autre de même nature (Wright et Tramer, 1953 a).

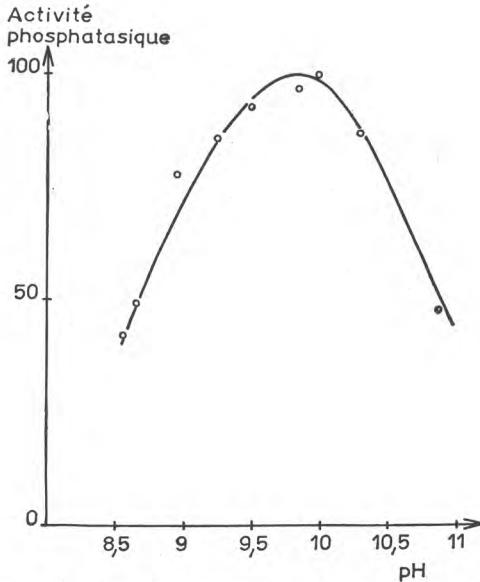


Fig. 6. — Influence du pH sur l'activité de la phosphatase alcaline « réactivée »  
En abscisses : pH du mélange réactionnel.

En ordonnées : activité phosphatasique exprimée en pourcentage relatif de paranitrophénol libéré par ml de crème pasteurisée 20 secondes à 90° C et conservée 3 jours à 30° C.

Nous avons cependant vérifié l'influence du pH du mélange réactionnel sur l'activité de l'enzyme « réactivée ». A cet effet nous avons mis en œuvre des échantillons de crème pasteurisés 20 secondes à 90° C et conservés 3 jours à 30° C. La courbe obtenue (fig. 6) présente la même allure que celle relative à la phosphatase originelle, elle montre que la zone de pH optimum d'activité est également comprise entre 9,6 et 10.

Afin de mettre en évidence l'influence de l'acidité et du temps de contact entre l'acide et le milieu, sur l'activité de la phosphatase « réactivée », nous avons procédé comme suit :

Les quatre échantillons de crème A, B, C, D sont pasteurisés 20 secondes à 90° C et conservés 3 jours à 30° C. Chaque échantillon est réparti en quatre lots. Le premier constitue le témoin, les trois autres sont acidifiés par addition d'acide lactique. L'activité phosphatasique est déterminée sur chacun des lots aux temps 0,30 minutes, 2 heures, 6 heures et 21 heures.

Le tableau IX rend compte des résultats obtenus. Bien que ceux-ci présentent une certaine irrégularité, il s'en dégage néanmoins des conclusions du même ordre que celles énoncées ci-dessus. L'acidité est, avec le temps, un facteur d'inhibition important de la phosphatase « réactivée ».

TABLEAU IX  
INFLUENCE DE L'ACIDIFICATION  
SUR L'ACTIVITÉ DE LA PHOSPHATASE ALCALINE « RÉACTIVÉE »  
(Activités exprimées en p. 100 de l'activité initiale)

Echan- tillons	Acidité (g d'acide par litre)	Temps de contact				
		0	30 mn	2 h	6 h	21 h
A	2,2	100	94	91	96	100
	3,0	108	104	103	104	107
	3,8	109	106	94	67	70
	5,1	116	88	47	5	2
B	1,7	100		66	96	105
	3,5	100		67	55	32
	4,6	56		26	22	12
	5,5	30		10	11	9
C	1,5	100	103	90	123	126
	2,6	92	125	116	157	159
	3,6	101	114	88	97	90
	4,3	16	11	4	3	4
D	1,8	100	99	102	110	175
	2,8	104	106	84	85	88
	3,8	98	92	69	60	40
	5,6	59	54	21	16	8

### 3° Influence de l'acidité de la crème Pasteurisée sur l'intensité de réactivation

Il convient maintenant de contrôler l'incidence de l'acidification sur le processus même de la réactivation. Deux méthodes sont

utilisées, l'une comporte l'addition d'acide lactique, l'autre l'ensemencement de la crème pasteurisée en ferments lactiques.

a) *Acidification par addition d'acide lactique.* — Dans une première série d'essais, l'acidification est réalisée par addition en une seule fois et immédiatement après pasteurisation d'une dose déterminée d'acide lactique à la crème pasteurisée (20 secondes, 90° C). La crème acidifiée et le témoin sont ensuite conservés à 30° C. L'activité de la phosphatase « réactivée » est mesurée après un temps variable de conservation (tabl. X). On remarque qu'une acidification même légère entraîne un abaissement marqué de l'intensité de réactivation.

Dans une seconde expérience, l'acidification est réalisée graduellement. Après pasteurisation (20 secondes, 90° C) l'échantillon est réparti en différents lots. Un de ces lots sert de témoin ; les autres sont acidifiés après avoir séjourné pendant des temps différents à 30° C : 6 heures, 18 heures, 27 heures et 42 heures.

TABLEAU X

INFLUENCE DE L'ACIDIFICATION PAR ADDITION D'ACIDE LACTIQUE  
SUR L'INTENSITÉ DE LA RÉACTIVATION

(Activités phosphatasiques exprimées en p. 100 de l'activité du témoin)

Essai N°	Acidité (g d'acide lactique par litre)		Temps de conservation à 30° C	
	Initiale	Après incubation	21 h	48 h
I	1,0	1,2	100	
	2,0	2,2	12	
	3,0	3,1	5	
II	1,7	2,1	100	
	3,8	4,8	3	
III	1,0	2,2		100
	1,5	2,2		42
	2,0	2,5		9

Les caractéristiques de l'essai (acidité et temps de conservation) et les activités phosphatasiques correspondantes sont mentionnées dans le tableau XI. L'absence d'acidification au temps zéro a permis à la réactivation de s'amorcer mais celle-ci est rapidement inhibée

TABLEAU XI

INFLUENCE D'UNE ACIDIFICATION GRADUELLE PAR ADDITION  
D'ACIDE LACTIQUE SUR L'INTENSITÉ DE LA RÉACTIVATION  
(Activités phosphatasiques exprimées en  $\mu\text{g}$  de paranitrophénol par ml de crème)

	<i>Temps de conservation</i>					
	0	6 h	18 h	27 h	42 h	50 h
Témoin	(1,1) (*) 4	(1,1) 50	(1,2) 105	(1,2) 120	(1,8) 180	(1,9) 250
1 <sup>re</sup> Acidification		(2,2) 75	(2,3) 80			
2 <sup>e</sup> Acidification			(3,5) 34	(3,6) 2		
3 <sup>e</sup> Acidification				(4,5) 0	(5,1) 1	
4 <sup>e</sup> Acidification					(6,1) 1	(5,8) 0

(\*) Les chiffres placés entre parenthèses représentent l'acidité de la crème exprimée en grammes d'acide lactique par litre.

par l'action de l'acide lactique. Pour une acidité finale de 3,5 g d'acide lactique par litre atteinte en 18 heures et maintenue pendant 9 heures, l'activité phosphatasique devient nulle.

Peut-on avancer pour autant que l'acidification bloque le mécanisme de la réactivation ? Compte tenu de l'action inhibitrice de l'acidité sur l'activité de l'enzyme originelle ou « réactivée », il n'est guère possible de se prononcer avec certitude sur ce point.

b) *Acidification parensemencement en ferments lactiques.* — Une crème pasteurisée (20 secondes à 90° C) estensemencée avec une culture de 24 heures d'une souche de streptocoque lactique. La crèmeensemencée et le témoin sont conservés à 30° C. L'activité de la phosphatase est déterminée après les temps de conservation 0, 6 heures, 21 heures, 30 heures et 45 heures. Les résultats (tabl. XII) confirment les observations précédentes concernant l'effet inhibiteur de l'acidification.

TABLEAU XII

INFLUENCE DE L'ACIDIFICATION PAR ENSEMENCEMENT  
EN FERMENTS LACTIQUES SUR L'INTENSITÉ DE LA RÉACTIVATION  
(Activités phosphatasiques exprimées en  $\mu\text{g}$  de paranitrophénol par ml de crème)

N <sup>o</sup> Essai	Taux d'ensemencement	Temps de conservation				
		0	6 h	21 h	30 h	45 h
I	Témoin	(1,2) (*) 2	(1,5) 24	(1,5) 46	(1,5) 52	(1,5) 100
	1%	(1,3) 4	(1,7) 29	(2,5) 27	(2,7) 26	(3,3) 23
II	Témoin	(1,8) 5	(1,9) 36	(1,9) 91	(2,0) 91	(2,1) 161
	3%	(2,0) 5	(2,2) 23	(3,0) 19	(3,3) 9	(3,7) 12

(\*) Les chiffres placés entre parenthèses représentent l'acidité de la crème exprimée en grammes d'acide lactique par litre.

#### IV. — Discussion

Sous certaines conditions, le phénomène de la réactivation de la phosphatase alcaline dans les crèmes pasteurisées HTST se manifeste régulièrement et présente une intensité très appréciable. Le contrôle de la pasteurisation des crèmes par l'épreuve de la phosphatase risque alors d'être peu probant, voire même sans valeur, si certaines précautions ne sont pas observées.

Bien que l'intensité de la réactivation soit variable d'un échantillon de crème à l'autre et, pour un même échantillon, d'un essai à l'autre, alors que les conditions de traitement thermique et de conservation sont identiques, il est possible de mettre en évidence l'action de certains facteurs sur le phénomène.

Ainsi les conditions de chauffage, température et temps, peuvent être à l'origine de différences sensibles dans les intensités de réactivation. On sait que le phénomène ne se manifeste pas dans les crèmes ayant subi une pasteurisation à basse température, 30 minutes à 63° C (Brown et Ellicker, 1942 ; Ritter, 1953 ; Eddleman

et Babel, 1958) ou 6 minutes à 66° C (Posthumus, 1952). Par contre, une nette réactivation apparaît dans les crèmes pasteurisées à une température supérieure ou égale à 75° C (Eddleman et Babel, 1958).

Nous avons constaté que, pour une température donnée, l'intensité de la réactivation diminue lorsque le temps de chauffage augmente. Dans ces conditions, l'hypothèse selon laquelle la réactivation ne serait qu'une libération de phosphatase protégée paraît plausible (Simonart et Huberlant, 1956).

Toutefois, nous avons également noté que, pour un même temps de chauffage, l'intensité de la réactivation croît lorsque la température augmente et passe de 80 à 90 ou 95° C. Cette observation qui a été faite également sur le lait (Wright et Tramer, 1954 ; Hansson, 1961), n'est guère compatible avec l'hypothèse précédente qui identifie la phosphatase « réactivée » à une fraction protégée de l'enzyme originelle. Il paraît alors plus vraisemblable d'admettre une modification réversible de la structure de l'enzyme et l'intervention, dans le phénomène de réactivation, de groupements SH libres (Rapport Reading, 1959 ; Hansson, 1961), groupements qui n'apparaissent que par l'action d'un chauffage à température élevée sur les protéines.

Si l'on fait varier la température et le temps de chauffage, de telle sorte que l'efficacité thermique des traitements vis-à-vis de l'inactivation de la phosphatase soit sensiblement équivalente, on observe que l'intensité de la réactivation maximum correspond à une pasteurisation à haute température maintenue pendant un temps très court. Ce résultat est en accord avec les conclusions de travaux antérieurs effectués sur le lait. Dans ce produit, la réactivation ne se manifeste que si la pasteurisation est conduite à une température au moins égale à 85-90° C (Fram, 1957 ; Eddleman et Babel, 1958) et surtout si le traitement est du type « UHT » (Wright et Tramer, 1953 *a*, 1953 *b*, 1954).

Les conditions de conservation, notamment la température et le temps, influent également sur l'intensité de la réactivation. La température optimale est voisine de 30° C et ce résultat concorde avec des observations antérieures (Fuchs, 1953 ; Hansson, 1961). A 20° C, on constate encore un développement sensible de l'activité phosphatasique. Par contre, à 3-4° C et même 10° C, on ne décèle que des intensités de réactivation très faibles et sans grande signification après 3 jours de conservation. Signalons cependant que certains travaux mentionnent une réactivation même après conservation à basse température pendant 24-48 heures (Barber, 1942 ; Brown et Ellicker, 1942 ; Barber et Frazier, 1943 ; Eddleman et Babel, 1958). Nos essais et ceux de Paschke (1958 *a*, 1958 *b*) nous permettent néanmoins de conclure que l'épreuve de la phosphatase sur crème pasteurisée n'a de valeur que si elle est réalisée immédiatement après le chauffage ou si l'échantillon à tester est conservé à basse température (moins de 10° C) pendant un temps court.

Des précautions du même ordre sont d'ailleurs indispensables pour le contrôle des laits pasteurisés UHT (Basille, 1962).

Le facteur acidité semble particulièrement déterminant. Si, en effet, la réactivation se développe rapidement et avec une intensité marquée lorsque la crème est peu acide, une acidification du milieu inhibe très nettement et même, si elle est assez forte, totalement le phénomène.

Les résultats obtenus ne permettent pas d'expliquer le mécanisme d'action de l'acidité sur la réactivation. On ne peut dire que l'acidité empêche la réactivation de se produire car ce facteur agit sur l'activité même de l'enzyme (Brown, 1940 ; Bergman, 1941) qui diminue avec le temps lorsque l'acidité dépasse 3,5 à 4 g d'acide lactique par litre. Dans ces conditions, il devient difficile d'interpréter l'inhibition, partielle ou totale, constatée sur les crèmes pasteurisées en voie d'acidification. Les observations faites n'en permettent pas moins de conclure que les possibilités d'une réactivation notable dans les crèmesensemencées et mûries en vue de la fabrication du beurre doivent être très faibles, compte tenu de l'acidité développée, du temps et de la température de maturation. Cependant, elles ne sont sans doute pas nulles puisque des réactions positives ont été signalées sur des beurres provenant de crèmes mûries et correctement pasteurisées. Aussi, conviendrait-il de pouvoir différencier l'enzyme résiduelle de l'enzyme « réactivée » afin d'être en mesure d'utiliser valablement l'épreuve de la phosphatase alcaline dans le contrôle des beurres pasteurisés.

Les travaux réalisés à ce jour laissent penser que ces enzymes ne possèdent pas des propriétés différentes : même *pH* optimum, même évolution d'activité en fonction du *pH* (Wright et Tramer, 1953 *a*). Si certains auteurs ont noté une plus grande thermorésistance de la phosphatase « réactivée » (Haller, Babcock et Ellis, 1941 ; Barber et Frazier, 1943) d'autres observent au contraire que cette dernière est plus sensible à l'action thermique (Fuchs, 1953 ; Siegenthaler, 1954) ou qu'il n'y a pas de différence dans la thermorésistance de l'une et de l'autre de ces enzymes (Usseglio-Tomasset, 1961). Il semble bien que l'on puisse dire avec Wright et Tramer (1953 *a*) que la phosphatase « réactivée » est apparemment identique à la phosphatase naturelle. La différenciation entre les deux enzymes ne peut alors reposer sur la nature de la phosphatase « réactivée ».

Peut-être pourrait-elle être fondée sur le mécanisme de la réactivation ? Ce dernier est, nous l'avons vu, controversé, mais des observations récentes (Wright et Tramer, 1953 *b*) ; Rapport Reading, 1959 ; Hansson, 1961), suggèrent que la modification de la structure moléculaire de l'enzyme, par chauffage, est réversible et que sous l'influence de substances réductrices, notamment les groupements sulfhydryles, le complexe enzymatique pourrait être reconstitué et par suite réactivé.

Ainsi Hansson (1961) constate que, sur un lait pasteurisé 20 secondes à 73° C puis conservé 24 et 48 heures à 20° C, l'addition de chlorhydrate de cystéine s'accompagne d'une réactivation sensible de la phosphatase alcaline. Sur le lait témoin, non additionné d'acide aminé porteur du groupement SH, aucune réactivation ne se manifeste.

D'autre part, McFarren et *al.* (1960), au cours de leurs études sur les facteurs de la réactivation, observent, dans les produits pasteurisés HTST la présence de phosphatase inactive, mais réactivable. Ils constatent que cette phosphatase peut être « réactivée » par incubation courte à température relativement élevée en présence de l'ion magnésium, dont on sait qu'il fait partie de la molécule de l'enzyme. Se fondant sur cette observation, ces auteurs appliquent un test de différenciation de la phosphatase « réactivée » et de la phosphatase résiduelle du lait et de la crème pasteurisée HTST. En présence d'ion magnésium, ils notent une augmentation sélective de l'activité de la phosphatase « réactivée ».

Partant de ces données, nous nous attachons à vérifier les différences de comportement, vis-à-vis de certains agents activateurs, de la phosphatase « réactivée » et de la phosphatase originelle.

### Summary

#### Contribution to the study of reactivation conditions of alkaline phosphatase in creams pasteurized

In samples of cream pasteurized at high temperature (80 to 95° C) for short times (15 to 30 sec.), reactivation of alkaline phosphatase occurs markedly. The conditions of this reactivation were studied and discussed. Three factors are of particular importance : temperature of heating, storage conditions and acidity of cream.

Thus, appreciable differences in the intensities of reactivation have been found when pasteurization was conducted at 80° C for 30 sec. or at 90° C for 20 sec. although the inhibitory effect exerted by these two « time × temperature » combinations on cream alkaline phosphatase were almost equivalent.

The intensity of the phenomenon is equally influenced by the temperature and the duration of storage. The maximum intensity is at a temperature around 30° C. At this temperature, reactivation is already very marked after a storage time of 12 h. At lower temperature (4° or even 11° C), the phenomenon only occurred to a small extent.

Finally, cream acidity has a marked inhibitory effect. When it reaches 4 to 4,5 g lactic acid per litre, intensity of reactivation is very low or nil.

These observations have practical and important bearings as far as conditions of industrial treatment of pasteurized cream are concerned.

#### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- R. ASCHAFFENBURG, J. E. C. MULLEN 1949. A rapid and simple phosphatase test for milk. *J. Dairy Res.*, 16, 58-67.
- F. W. BARBER. 1942. — Factors affecting the phosphatase test. *Amer. Butter Rev.*, 4, 206-210.
- F. W. BARBER, W. C. FRAZIER. 1943. — Development of a positive phosphatase test in refrigerated pasteurized cream. *J. Dairy Sci.*, 26, 343-352.
- D. BASILLE. 1962. — Méthodes pour apprécier le traitement thermique et pour estimer, après ce traitement, la qualité : a) du lait et des produits laitiers ; b) des œufs et des ovoproduits. *C. R. 3<sup>e</sup> Symposium W.A.V.F.H., Nice*, 228-302.
- T. BERGMAN, 1941. — Utilisation pratique de l'épreuve de la phosphatase pour le sérum (en suédois). *Svenska Mejeritidn.*, 33, 389-394.
- W. H. BROWN. 1940. — Some of the factors affecting the phosphatase values of butter. *J. Dairy Sci.*, 23, 510-511.
- W. H. BROWN, P. R. ELLICKER. 1942. — The effect of flash pasteurization and subsequent treatment on the phosphatase value of cream. *J. Bact.*, 43, 118-119.
- T. C. BUCK, Jr. 1942. — False positive phosphatase test from a thermophil in pasteurized milk. *Amer. J. Publ. Hlth.*, 32, 1224-1236.
- T. L. EDDLEMAN, F. J. BABEL. 1958. — Phosphatase reactivation in dairy products. *J. Milk Fd. Tech.*, 21, 126-130.
- H. FRAM. 1957. — The reactivation of phosphatase in HTST pasteurized dairy products. *J. Dairy Sci.*, 49, 19-27.
- A. FUSCHS. 1953. — Biologische und physiologische Merkmale der uperisierten Milch. *C.R. XIII<sup>e</sup> Congr. Int. Lait., La Haye*, 3, 1018-1020.
- HALLER, BARCOCK, ELLIS. 1941. — *Technic Bull. U. S. Départ. Agric.*, n° 800.
- HASSON E., 1961. — Réactivation de la phosphatase alcaline du lait (en suédois). *Svenska Mejeritidn.*, 53, 183-192.
- R. L. J. LYSTER, R. ASCHAFFENBURG. 1962. — The reactivation of milk alkaline phosphatase after heat treatment. *J. Dairy Res.*, 29, 21-35.
- E. F. McFARREN, R. C. THOMAS, L. A. BLACK, J. E. CAMPBELL. 1960. — Differentiation of reactivated from residual phosphatase in HTST, pasteurized milk and cream. *J. Ass. Off. Agric. Chem.*, 43, 414-426.
- J. B. MICKLE, R. DIAB, H. C. OLSON. 1960. — Phosphatase reactivation in pasteurized milk. *J. Dairy Sci.*, 43, 437.
- NATIONAL INSTITUTE FOR RESEARCH IN DAIRYING. 1959 report. University of Reading, Shinfield, Berkshire, 78.
- B. PASCHKE 1958 a. — Regeneration der Phosphatase. *Milchwissenschaft*, 13, 73-75.
- B. PASCHKE. 1958 b. — Regeneration der Phosphatase. *Milchwissenschaft*, 13, 553-554.
- G. POSTHUMUS. 1952. — Réactivation positive de la phosphatase dans la crème pasteurisée et le beurre (en hollandais). *Off. Org. K. ned. Zuivelb.*, 44, 458.
- W. RITTER. 1953. Das Verhalten der Phosphatase bei der Pasteurisation des Rahmes. *C. R. XIII<sup>e</sup> Cong. Int. Lait., La Haye*, 3, 1014-1017.
- S. P. SANDERS. 1949. The phosphatase test for pasteurization of dairy products. *C. R. XII<sup>e</sup> Cong. Int. Lait., Stockholm*, 2, 757-765.
- S. P. SANDERS, O. S. SAGER. 1949. Preservation of dairy products for the phosphatase test. *J. Dairy Sci.*, 32, 166-174.

- E. M. SCHOLZ. 1956. Untersuchung über die Phosphatasereaktion in Kurzzeit erhitzter Milch und Rahm. *Kieler Milchwirtschaft Forschbereiche*, 8, 233-262.
- E. SIEGENTHALER. 1954. Reaktivierte Phosphatase in hoch Pasteurisiertem Schlagschmalz und deren Nachweis. *Mitt. Lebensm. Hyg.*, 4, 84-92.
- P. SIMONART, J. HUBERLANT. 1956. — Contribution à l'étude de l'inversion de l'épreuve de la phosphatase. *C. R. XIV<sup>e</sup> Cong. Int. Lait., Rome*, 1, 251-257.
- G. SJÖSTRÖM. 1943. — *Svenska Mejeritidn.*, 35, 269.
- G. SJÖSTRÖM. 1944. — *Svenska Mejeritidn.*, 36, 119.
- L. USSEGLIO-TOMASSET. 1961. — La riattivazione della fosfatasi alcalina nelle creme. *Latte*, 35, 804-806.
- W. J. WILEY, F. S. J. NEWMAN, H. R. WHITEHEAD. 1941. — A study of some factors influencing the phosphatase reaction of flash pasteurized cream and butter made from it. *J. Counc. Sci. Industr. Res.*, 14, 121.
- R. C. WRIGHT. 1956. — The influence of reactivation of phosphatase upon the assessment of the heat treatment of milk and cream. *C. R. XIV<sup>e</sup> Cong. Int. Lait., Rome*, 3, 717-731.
- R. C. WRIGHT, J. TRAMER. 1953 a. — Reactivation of milk phosphatase following heat treatment. *J. Dairy Res.*, 20, 177-188.
- R. C. WRIGHT, J. TRAMER. 1953 b. — Reactivation of milk phosphatase following heat treatment. *J. Dairy Res.*, 20, 258-273.
- R. C. WRIGHT, J. TRAMER. 1954. — Reactivation of milk phosphatase following heat treatment. *J. Dairy Res.*, 21, 37-49.
- R. C. WRIGHT, J. TRAMER. 1956. — Reactivation of milk phosphatase following heat treatment : IV. The influence of certain metallic ions. *J. Dairy Res.*, 23, 248-256.

## LES LAITS TROPICAUX

### ÉTUDE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE ET DES VARIATIONS DE COMPOSITION DES LAITS DE VACHES AU MALI <sup>(1)</sup>

par

R. RIVIERE et J. CLÉMENSAT

avec la collaboration technique de SAKHO MOUSSA

*Institut d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux  
(Travaux réalisés au Laboratoire de Biochimie du Centre  
de Recherches Zootechniques de Sotuba-Bamako (Mali))*

#### Introduction

Le lait possède une valeur nutritive qui lui donne une place de choix dans l'alimentation tant humaine qu'animale. L'équilibre harmonieux qui existe entre ses multiples constituants en fait un véritable aliment complet.

(1) *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1964, 17, n° 2 (255-271),