MODIFICATION ET SIMPLIFICATION DU PROCÉDÉ PROPOSÉ PAR M. LE D^r HÖYBERG POUR LA DÉTERMINATION DE LA MATIÈRE GRASSE DANS LE LAIT ET LA CRÈME

Par Bernhard SPUR

Laboratoire biochimique de l'Institut Polytechnique Royal de Copenhague
(Directeur : Professeur ORLA-JENSEN).

Le procédé proposé par M. le D^r HÖYBERG pour la détermination de la matière grasse dans le lait et la crème a, depuis son apparition, subi, d'année en année, des modifications tendant à le simplifier, la Société Hoyberg s'étant efforcée sans relâche à en réaliser le perfectionnement.

Sous la forme primitive du procédé HÖYBERG, la seule forme dans laquelle il est employé, il nécessite quatre sortes de liqueurs, c'est-à-dire les liqueurs I et II pour le lait et I et II pour la crème. Cependant en automne 1924, les essais tentés dans le but de remplacer par une liqueur unique les liqueurs I et II avaient en bonne partie réussi ; on y parvint d'abord pour la crème (1) et plus tard, passablement bien aussi pour le lait. Mais il fallait toujours employer pour la crème une liqueur différente de celle utilisée pour le lait.

Quelques essais que j'avais entrepris dans ce laboratoire, firent cependant penser qu'il était possible d'aller plus loin encore, et de se servir *d'une seule et même liqueur* pour le lait et pour la crème ; seulement, il faudrait l'utiliser dans des proportions différentes. Je fus alors chargé d'essayer de résoudre ce problème, pour réaliser ainsi la simplification la plus grande possible du procédé.

Après une année de recherches et d'essais, il est maintenant établi qu'en choisissant convenablement la grandeur des butyromètres et la composition de la liqueur, on pourra se contenter d'une seule sorte de celle-ci tant pour le lait que pour la crème.

En même temps, j'ai repris l'examen des facteurs essentiels de la méthode, et grâce à cette étude je suis arrivé à les mettre définitivement en lumière et à apporter quelques améliorations au mode opératoire.

Avant d'exposer la partie expérimentale du présent travail, il y a lieu de faire ici quelques remarques générales et de discuter à ce propos la question importante de la conservation des échantillons de lait.

Dans les Comptes rendus 113 et 116 du Laboratoire d'expériences

(1) ORLA-JENSEN, le procédé Høyberg pour la détermination de la matière grasse dans le lait et la crème (*le Lait*, mars 1923.)

de l'Institut Royal agronomique *Landbohøjskolen* de Copenhague. M. A.-C. ANDERSEN, chef dudit laboratoire, attire l'attention sur un défaut inhérent aux méthodes faisant emploi d'alcalis (y compris celle de RÖSE-GOTTLIEB, généralement reconnue comme étant d'une très grande précision), c'est que dans les échantillons âgés de plusieurs jours, on risque de trouver une teneur trop basse en matière grasse. La raison en serait que, malgré l'emploi d'agents de conservation, certains micro-organismes effectuent une décomposition de la graisse du lait, et que de ce fait, les acides gras libres formeraient des sels solubles dans l'eau et ne passant pas dans la graisse, alors que dans les méthodes acides les acides gras sont séparés et mêlés avec la graisse elle-même, de telle sorte que l'erreur causée par l'hydrolyse de la graisse se trouve à peu près supprimée.

Il est évident qu'en cas de décomposition de la graisse suivie d'une saponification, la quantité de matières qui passe dans la graisse est diminuée et en conséquence une méthode alcaline se trouverait moins convenable. Pour les méthodes acides, cependant, cette erreur n'est compensée que dans le cas où la décomposition de la graisse ne serait pas trop avancée.

Cependant, comme il est mentionné dans les comptes rendus cités ci-dessus, ces cas de saponification n'arrivent pas souvent. Il s'agit de quelques cas isolés comprenant des laits dont le traitement qu'ils avaient subi avant d'être conservés est inconnu. En dehors de cela, il est dit que le laboratoire a essayé en vain de constater une tendance à la saponification dans du lait commercial ordinaire qu'on avait fait acheter et qui était additionné de 1/000 de bichromate de potassium.

Etant un procédé alcalin, le procédé HÖYBERG se rattache au procédé RÖSE-GOTTLIEB et se comporte d'une façon semblable envers les laits dont la graisse a subi une décomposition.

Puisqu'on se sert d'une base très forte, NaOH, et qu'en même temps on a recours au chauffage, on aurait tout lieu de s'attendre à ce que la saponification s'effectuât d'une manière plus vive. On pourrait même croire qu'après une durée d'action suffisamment longue, la graisse se saponifierait, même sans décomposition préalable par des microbes.

Cependant, par le procédé simplifié, l'alcalinité et la température ont été baissées le plus possible (la liqueur utilisée est un mélange de quelques alcools supérieurs dans une solution de NaOH 4,5 % environ). Il s'est trouvé impossible de les baisser davantage, si l'on veut effectuer dans un délai convenable la dissolution des albuminoïdes nécessaire à la séparation de la graisse. Avec cette quantité, l'alcalinité totale du mélange (lait et liqueur) ne sera que de 1,8 % NaOH environ, et dans le mélange de la crème elle s'élèvera à un peu plus

de 2 %. Une teneur aussi faible en base rend l'emploi de la liqueur absolument inoffensif, ce qui est d'une grande importance.

La température à laquelle on procède, a été abaissée jusqu'à environ 50° C., d'abord parce que le risque d'une saponification diminue évidemment avec la température, et d'ailleurs aussi par cette raison, purement technique, qu'il est agréable de travailler avec des butyromètres qui ne vous brûlent pas les mains (comparer ces butyromètres avec ceux de GERBER qui, pendant l'agitation, montent jusqu'à 80°-90° C., et qui sont mis dans le bain-marie à 65°-70° C.).

Finalement, en ce qui concerne le temps d'action des alcalis, on peut constater que, ce qui importe, c'est le temps pendant lequel la graisse et les alcalis sont en contact quand on chauffe. Du reste, une fois la graisse séparée, l'action du liquide alcalin sous-jacent est très faible.

Cependant, la séparation de 80 à 90 % de la matière grasse ne dure qu'une dizaine de minutes, et pendant une partie de ce temps la liqueur reste encore bien au-dessous des 50° C. Avant de s'accumuler, les globules de graisse ne restent donc exposés à l'attaque des alcalis à la température finale que pendant un temps relativement court.

Aussi, ai-je pu constater par des essais qu'il est très difficile de provoquer une saponification dans un lait où il n'y a pas eu, préalablement, une décomposition appréciable.

L'essai a été exécuté de la manière suivante : en retournant les butyromètres, la graisse séparée s'est mélangée une seconde fois avec la liqueur aqueuse, puis on lui a permis de s'accumuler encore pendant dix autres minutes, et finalement nous l'avons centrifugée pour obtenir le dernier reste de graisse. Après réchauffage des butyromètres à 50°, on les a tournés de nouveau, et ainsi de suite.

A 50°, on n'a démontré une production réduite de graisse qu'après avoir retourné cinq ou six fois, donc après une heure environ.

Si l'on hausse la température considérablement, par exemple à 70°, la décomposition est accélérée un peu, une diminution de la graisse se produisant déjà après quatre retournements, soit trente à quarante minutes.

Donc, on peut dire qu'il n'y a qu'une faible tendance à la saponification dans le lait et la crème frais. Cette tendance ne joue aucun rôle contre l'utilisation de la méthode présente. Pour le lait et la crème en état caillé, il en est par contre comme suit : une décomposition de la graisse apparaît à un certain moment, décomposition qui se traduira, comme je l'ai mentionné ci-dessus, par un pourcentage de graisse un peu plus bas, quand on se sert d'une méthode alcaline. Pourtant, la décomposition de la graisse n'est observée qu'après

que le lait est devenu très acide. Pour la crème, la décomposition de graisse qui accompagne l'acidification a encore moins d'importance, entre autres choses, parce que la graisse est déterminée ici avec une précision de $1/2$ % seulement, de sorte qu'une décomposition de la graisse n'est constatée que quand elle sera bien avancée.

Dans le cas où le lait ou la crème seraient si acides, qu'ils seraient coagulés, la seule difficulté d'obtenir un échantillon moyen exact par un pipettage s'opposera déjà à une détermination de la matière grasse dans ces conditions.

Les bactéries lactiques n'étant pas à même de décomposer la graisse, le degré d'acidité ne donne pas nécessairement la mesure du progrès de la décomposition de la graisse, mais ordinairement il se développe pendant le caillage des levures et des moisissures qui pourront peu à peu attaquer la graisse.

Cette question fera plus tard l'objet d'un examen spécial ; ici je veux seulement mentionner une circonstance qui est d'une grande importance pour toute méthode de détermination de graisse, et surtout pour les méthodes alcalines. Lorsqu'on désire garder pendant plusieurs jours — une semaine par exemple — un échantillon de lait ou de crème pour en déterminer la graisse, il faut le conserver pendant qu'il est encore frais. Si l'on n'ajoute l'agent conservateur qu'après que le lait a commencé de se gâter, la décomposition de la graisse avancera tranquillement, même avec une quantité d'agent de conservation suffisante au moins, pour arrêter la croissance des bactéries lactiques.

Quant au choix de l'agent de conservation, il faut décidément préférer le bichromate de potassium. Cet agent à 1 pour 1.000 est aussi recommandé pour le procédé de GERBER. Cependant, dans le premier Compte rendu de la Laiterie d'expériences de l'Etat, le chef des expériences, M. THOLSTRUP PEDERSEN, déconseille d'en employer plus d'environ 0,1/000.

Pour la méthode présente, 1/000 de bichromate de potassium est une dose convenable ; on peut aussi utiliser de la formaline à 40 %, mais pas à une concentration dépassant 0,5 0/00. Avec cette dose de formaline, on peut conserver un échantillon convenablement pendant huit jours, pourvu qu'on ait soin de le garder à température basse.

Naturellement, il est toujours recommandable de recourir à la réfrigération, si possible. Dans ce cas, on pourra employer une dose plus petite de l'agent conservateur. La réfrigération préconisée par M. THOLSTRUP PEDERSEN ne présente aucune difficulté pour les laiteries, car là on peut facilement placer la caisse renfermant les échantillons sur le réfrigérateur. Si, par exemple, pendant une semaine on met un échantillon du lait de chaque fournisseur dans une bou-

teille pour déterminer à la fin de la semaine le pourcentage moyen de la graisse, il est très important de mélanger soigneusement la portion de chaque jour avec le contenu de la bouteille auquel on aura ajouté, dès le commencement, toute la quantité de l'agent de conservation nécessaire.

Quand un échantillon est âgé de plusieurs jours avant d'être examiné, la graisse (la crème) s'est toujours accumulée en haut, formant une couche, souvent assez compacte. Pour obtenir un bon échantillon moyen, il faut de nouveau répartir la crème, et ceci ne pourra s'effectuer qu'en plaçant l'échantillon pendant environ vingt minutes dans de l'eau chaude — de 30° à 35° — et en retournant ensuite quelquefois soigneusement la bouteille contenant l'échantillon dans le sens vertical, manipulation qui assurera une bonne répartition.

Quant au lait ou à la crème caillés, il faut y ajouter une à deux gouttes d'ammoniaque forte par 100 cc., avant de le placer dans l'eau chaude.

Dans le procédé HÖYBERG, on ne se sert pas de centrifuge, on le sait. L'action des alcalis sur les matières albuminoïdes du lait est si puissante, qu'on obtient, même avec une alcalinité très basse, une décomposition et une dissolution de ces matières suffisantes pour libérer et faire monter la graisse, l'émulsion formée étant dispersée par les alcools supérieurs contenus dans le liquide.

La graisse est, pour ainsi dire, libérée quantitativement. Pourtant, on pourra toujours en faire sortir un petit reste à l'aide de l'écumeuse, soit environ 0,05 %. Dans des conditions égales la quantité de cette graisse restante est constamment la même, et c'est bien ce fait qui rend le procédé si avantageux.

La détermination pour les laits de 1 à 8 % de graisse est irréprochable et suit très exactement les déterminations RÖSE-GOTTLIEB ; pour les hauts pourcentages de graisse, elle est même meilleure que celles de GERBER. Donc, le procédé HÖYBERG donne de meilleurs résultats que celui de GERBER pour les laits avec 7 à 8 % de matière grasse. Cela est nettement prouvé par les tableaux suivants ; à l'examen de ceux-ci, ce fait et d'autres détails encore seront traités plus amplement.

La graisse libérée par le procédé HÖYBERG n'est pas une matière grasse du lait pure. Par un refroidissement vif, la graisse se fige et des grumeaux massifs se séparent dans une masse plus molle. Par des essais, on a constaté que le point de fusion en est de 29° C. environ, et la densité à 68° est d'environ 0,8682, tandis qu'à la même température la matière grasse du lait accuse une densité de 0,8846, selon le Compte rendu n° 116 de *Forsöglaboratoriet* (laboratoire d'expériences).

Il faut donc considérer la graisse HÖYBERG comme un produit artificiel, qui n'est nullement identique à la matière grasse du lait, et qui renferme sans doute de faibles quantités des alcools utilisés. Une fois la méthode ajustée à cet effet, ce fait n'aura aucune influence sur son exactitude. Au contraire, il est très probable que c'est cette circonstance même qui permet d'obtenir des résultats exacts, malgré le pipettage de cette dernière. Plus la crème est grasse, moins il en sera pipetée, en poids, mais cette erreur est compensée par le fait que, plus la quantité de graisse libérée est considérable, plus grande est aussi celle des alcools supérieurs qui y passent.

Nous allons maintenant décrire en détails la technique des déterminations de la graisse du lait d'après le procédé HÖYBERG.

On prend à l'aide d'une pipette 9,7 cc. de lait et 6,5 cc. de liqueur. Bien entendu, il faut enlever le lait très soigneusement ; et dans le but de raccourcir le plus possible le temps de cette manipulation, la pipette doit avoir été ajustée de telle façon que le lait en coule de lui-même sans soufflement. On ne doit pas appuyer la pointe de la pipette contre le côté intérieur du butyromètre afin d'éviter que trop de lait ne sorte de la pipette.

En ce qui concerne le butyromètre HÖYBERG même, il a subi des modifications non seulement pour ses dimensions mais aussi dans sa forme extérieure. Le tube aplati gradué porte à chaque extrémité un réservoir en forme de boule, dont l'un se termine par un orifice étroit muni de rainures. C'est ici qu'on fixe le bouton en caoutchouc. Le nouveau butyromètre est donc pareil au butyromètre aplati de GERBER, avec cette seule différence que la poire est notablement plus grande que celle de GERBER. On verse d'abord dans le butyromètre le lait qui atteindra le milieu de l'échelle. Ensuite on y verse la liqueur, en faisant toucher la pointe de la pipette à la paroi intérieure du butyromètre jusqu'à ce que le tube gradué soit plein. De cette manière, la liqueur coule lentement au-dessus du lait sans se mélanger avec lui. Dans l'étroit tube gradué, les deux liquides se rencontrent en présentant une très petite surface ce qui empêche une saponification appréciable avant le secouement. Bien que la saponification ne se fasse que difficilement à froid, cette façon de faire est pourtant la plus sûre, quand l'agitation ne peut avoir lieu qu'au bout d'un temps assez long, ce qui arrive lorsqu'on doit examiner simultanément un grand nombre d'échantillons de lait.

Après pipettage, une détermination de graisse se divise en les temps suivants :

1^o Mélange par agitation du lait et de la liqueur dans le butyromètre, au froid ;

2^o Premier chauffage au bain-marie, au cours duquel le liquide

alcalin tendra à dissoudre la caséine et les matières albuminoïdes enfermant les globules de graisse ;

3^o Agitation répétée à chaud, et ensuite le second chauffage, par lequel la graisse sera pour la plus grande partie libérée ;

4^o Accumulation de la graisse presque libérée dans le mélange chaud ; à cet effet, il est nécessaire de retourner deux fois le butyromètre à de courts intervalles.

I. — *Mélange par agitation*. En étudiant de plus près le mélange de lait et de liqueur dans le butyromètre, il fut constaté qu'il importe beaucoup de secouer bien soigneusement. Il faut s'assurer que le mélange coule bien régulièrement, avant de le placer dans le bain-marie. Il va sans dire qu'il convient de répartir la liqueur alcaline uniformément dans le lait, de façon à ce que les matières albuminoïdes enveloppant la graisse soient attaquées simultanément et également. Il n'est pourtant pas difficile de secouer comme il faut : il n'est point besoin de le faire avec beaucoup de force, pourvu qu'on ait soin d'arrêter chaque secousse par un mouvement brusque et saccadé, de manière à ce que le contenu du butyromètre soit jeté vers ses parois. La répartition uniforme du contenu se trouve grandement facilitée par la forme nouvelle donnée aux butyromètres de HÖYBERG.

Après avoir bouché le butyromètre, on le retourne, le bouchon en bas, jusqu'à ce que tout le lait se soit rassemblé avec la liqueur sur le bouchon. Cela fait, on secoue brusquement et énergiquement vingt fois dans le sens longitudinal du butyromètre.

Finalement on donne quelques secousses en travers du sens longitudinal du butyromètre et on le retourne deux ou trois fois en haut et en bas. Le tout ne prend qu'une demi-minute.

II. — Ensuite le butyromètre est mis au bain-marie à 50° environ, le bouchon tourné en bas. On ne doit pas laisser varier la température beaucoup autour de ce degré. Pour le lait frais, le fait que la température pourra s'abaisser à 47°-48° ou monter à 60°, ne joue aucun rôle. Le tableau I a apprend que le résultat n'en est nullement influencé. Par contre, il n'est pas bon que la température monte jusqu'à 70°. C'est assez curieux, mais le tableau montre qu'une aussi forte hausse de la température donne un pourcentage de graisse plus bas, malgré le fait que la graisse se dilate et tient plus de place à 70° qu'à 60°. L'explication de ce phénomène doit être cherchée dans le fait que les conditions de dissolution pour les alcools supérieurs dans la graisse et dans les phases aqueuses sont différentes ; et il y sera probablement encore question d'une saponification commençante — en tout cas si l'on prolonge l'opération. Ces deux conditions peuvent produire une diminution de la couche de matière grasse.

TABLEAU I

A

L'influence de la température sur les déterminations de graisse. Intervalle 48° à 60° est applicable. Tous les échantillons sont du même lait.

48°		50°		60°		70°	
10 m.	15 m.	10 m.	15 m.	10 m.	15 m.	10 m.	15 m.
3,40	3,45	3,50	3,50	3,50	3,50	3,40	3,40
3,40	3,50	3,45	3,50	3,50	3,50	3,40	3,40
3,45	3,50	3,40	3,45	3,45	3,50	3,45	3,45
3,45	3,50	3,50	3,45	3,45	3,45	3,45	3,45
3,50	3,45	3,50	3,50	3,40	3,50	3,40	3,40
3,40	3,50	3,40	3,45	3,50	3,50	3,40	3,40
3,43	3,49	3,46	3,49	3,47	3,50	3,41	3,42

B

La diminution du temps d'une détermination de graisse par élévation de la température à 60 degrés sera de 6 minutes environ. Les déterminations sont effectuées sur différents échantillons de lait.

	50°			60°			70°		
	3 × 3 + 10, 15, 20 m.			3 × 2 + 10, 12, 20 m.			3 × 2 + 10, 12, 20 m.		
	10 m.	15 m.	20 m.	10 m.	12 m.	20 m.	10 m.	12 m.	20 m.
N° 1.	3,65	3,70	3,70	3,65	3,70	3,70	3,55	3,60	3,60
	3,60	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,60	3,60	3,60
N° 2.	3,40	3,50	3,50	3,45	3,55	3,55	3,40	3,45	3,45
	3,45	3,55	3,55	3,45	3,55	3,55	3,35	3,45	3,45
N° 3.	3,50	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60	3,50	3,50	3,50
	3,55	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60	3,45	3,45	3,50
N° 4.	3,60	3,65	3,65	3,60	3,70	3,70	3,60	3,60	3,60
	3,60	3,70	3,70	3,55	3,70	3,70	3,65	3,65	3,65

Plus tard, je retournerai au tableau 1, quand la durée de l'exécution de notre méthode sera discutée.

Pour le lait conservé, surtout s'il l'a été pendant une semaine par exemple, il est absolument indispensable de veiller à ce que la température ne varie pas plus de deux ou trois degrés en plus ou en moins des 50° C. Le bichromate de potassium ou la formoline produisent pour ainsi dire une sorte de tannage des matières albuminoïdes. Celles-ci sont néanmoins facilement dissoutes par la liqueur HÖYBERG, quand la température ne dépasse pas trop les 50°. L'opération serait trop longue si la température était très inférieure à 50° C. Dans le cas où l'on tâcherait de l'accélérer en portant la température à 60°, — ce qui est possible pour le lait frais, je le montrerai plus tard, — il se forme des pellicules et des bulles, qui ne disparaîtront qu'après plusieurs retournements et un repos prolongé du butyromètre. La cause en est probablement, qu'à plus haute température les matières albuminoïdes se coagulent, formant de gros grumeaux, qui demeurent longtemps protégés contre l'attaque des alcalis.

Si l'on pose un butyromètre plein de pellicules et de bulles dans

la couche de graisse dans une écrémeuse de GERBER, on ne rencontrera absolument aucune des difficultés mentionnées, à la suite de la centrifugation qu'on n'a besoin de faire durer que 2 ou 3 minutes.

La durée du premier repos au bain-marie est de 3 minutes. C'est une durée minima. Pour le lait frais ordinaire, on peut bien laisser écouler un temps plus long, jusqu'à 6 à 7 minutes. Il est d'importance de se borner à 3 minutes pour les laits conservés.

III. — Au bout de 3 minutes, on retire donc le butyromètre. On le secoue vivement dix fois en avant et en arrière dans le sens longitudinal ; puis on le retourne à l'effet d'en faire couler le contenu de l'un des deux réservoirs dans l'autre, et l'on secoue de nouveau dix fois, en avant et en arrière comme auparavant. Le butyromètre est alors placé au bain-marie, le bouchon en bas. Cela dure de un quart à une demi-minute. Le brisement des membranes des matières albuminoïdes des globules de graisse se trouve considérablement favorisé par l'agitation à chaud. Cette manipulation est même si essentielle, que, si on la néglige, le résultat définitif pourra en être influencé avec un pourcentage de graisse de jusqu'à 0,2 en moins.

Si, d'autre part, un échantillon est resté trop longtemps au bain-marie, un quart d'heure par exemple, et que par suite la plupart de la graisse se soit séparée avant l'agitation à chaud, il vaut mieux supprimer cette dernière manipulation, la graisse devenant autrement trouble.

IV. — Après un second repos de 3 minutes au bain-marie, on en retire le butyromètre, et pour bien mélanger son contenu, on retourne l'instrument une fois en ayant soin de faire couler le contenu à travers l'étroit tube gradué, d'un réservoir dans l'autre. Ensuite, le butyromètre est replacé au bain-marie, le bouchon en bas. Après la dernière agitation, la graisse ayant été vivement retournée, elle se sera en partie séparée au moment de ce retournement. Tous les grumeaux et le trouble disparaissent après ce retournement, et l'on pourrait à la rigueur se borner à laisser le butyromètre en repos jusqu'à la lecture.

V. — Cependant, j'ai constaté qu'un nouveau retournement après 3 autres minutes de repos assurera un résultat définitif bien exact, et ici encore on a visé tout spécialement le lait conservé. Le butyromètre sera donc retiré après encore 3 minutes, on le retourne exactement comme nous l'avons expliqué sous le numéro IV, après quoi il sera replacé au bain-marie, le bouchon en bas.

Immédiatement avant ce retournement, la graisse s'est séparée presque complètement ; il n'en manque ordinairement que 0,2 à 0,5 %. Pour obtenir une séparation intégrale, on doit laisser le buty-

mètre au bain-marie pendant 10-15 minutes. La durée totale de ces manipulations est donc de 3×3 minutes + 10-15 minutes — 20-25 minutes, y compris le temps des agitations et retournements.

En ce qui concerne le raccourcissement de ce temps, voyez le tableau I b), où figurent quelques essais faits avec augmentation de la température. Il va sans dire que les alcalis attaquent plus vigoureusement à des températures élevées, raison pour laquelle il était tout indiqué d'essayer des températures de 60° et 70°, par exemple. Il est vrai qu'en agissant ainsi on se prive de l'agrément de travailler avec des liquides qui ne vous brûlent pas les mains, et en même temps on court un plus grand risque de saponification, mais si l'on n'a que peu de temps, il serait peut-être avantageux *d'avoir la possibilité* de pouvoir accélérer la détermination de la graisse.

Comme on le verra par le tableau, les 3×3 minutes pourront être réduites à 3×2 minutes et le dernier repos à 10-12 minutes quand la détermination est faite à 60°. Comme les tableaux I a) et I b) l'indiquent, la température ne devra pas dépasser ce point. Ainsi, le temps des opérations se trouvera réduit à 6-8 minutes. Il convient cependant de remarquer ici, comme il a été déjà dit ci-dessus, qu'on ne pourra pas accélérer de la sorte une détermination de graisse dans du lait ou de la crème conservés.

Il est également impossible d'augmenter la vitesse de la séparation pour lait avec les pourcentages de graisse inférieurs à 1. Au contraire, pour être tout à fait sûr d'arriver à un résultat exact, il faut se rendre compte de ce que le dernier repos sera augmenté de 15 à 20 minutes, de sorte que les opérations prendront 1/2 heure environ. Un essai fait avec un lait maigre artificiel, constitué par un mélange de lait écrémé et de lait entier, prouve ceci nettement ; le tableau II a) montre 10 déterminations doubles de lait contenant moins de 1 % de graisse. Après 15 minutes de repos, il n'y en a que 4 (ou 20 %) qui ne montent pas après un repos ultérieur ; mais, après 5 autres minutes, tous les échantillons ont atteint le maximum, ce qu'on voit par le fait qu'aucun d'eux ne monte plus après un repos ultérieur de 5 minutes. Du tableau II b) il résulte que pour lait avec les pourcentages de graisse d'environ 1 % on peut se contenter de 15 minutes de repos.

Si l'on conserve un lait ayant moins de 1 % de graisse, cette petite quantité aura tant de difficulté à se séparer quantitativement, que le résultat définitif sera trop bas de 0,1-0,2 %. Dans ce cas, l'erreur peut être compensée par un autre mode de lecture, dont je parlerai plus tard. Par contre, dans les cas où l'on désire apprendre très vite le pourcentage de la graisse, on peut toujours recourir à la centrifugation, question qui sera également traitée plus loin.

TABLEAU II

La durée nécessaire du dernier repos au bain-marie avant la lecture est pour le lait ayant moins de 1 % de graisse de 20 minutes. Bain-marie : 50°. Le lait est un mélange de lait entier et de lait écrémé. Les déterminations ont été faites sur différents mélanges.

$3 \times 3 + 10, 15, 20, 25$ minutes.

A

	10 m.	15 m.	20 m.	25 m.		10 m.	15 m.	20 m.	25 m.
N° 1.	0,50	0,55	0,60	0,60	N° 6.	0,65	0,65	0,65	0,65
	0,45	0,50	0,55	0,55		0,65	0,70	0,70	0,70
N° 2.	0,70	0,75	0,80	0,80	N° 7.	0,50	0,50	0,60	0,60
	0,70	0,75	0,75	0,75		0,45	0,45	0,55	0,55
N° 3.	0,75	0,75	0,80	0,80	N° 8.	0,80	0,80	0,85	0,85
	0,70	0,75	0,80	0,80		0,80	0,80	0,85	0,85
N° 4.	0,40	0,45	0,50	0,50	N° 9.	0,75	0,75	0,80	0,80
	0,40	0,40	0,50	0,50		0,70	0,75	0,75	0,75
N° 5.	0,60	0,65	0,65	0,65	N° 10.	0,50	0,50	0,60	0,60
	0,60	0,60	0,70	0,70		0,50	0,60	0,65	0,65

B

	10 m.	15 m.	20 m.		10 m.	15 m.	20 m.
N° 1.	1,30	1,35	1,35	N° 5.	0,95	1,00	1,00
	1,30	1,35	1,35		0,95	1,00	1,00
N° 2.	0,95	1,05	1,05	N° 6.	1,05	1,10	1,10
	0,90	1,00	1,00		1,05	1,10	1,10
N° 3.	1,05	1,10	1,10	N° 7.	1,20	1,25	1,25
	1,05	1,10	1,10		1,20	1,25	1,25
N° 4.	0,90	0,95	0,95	N° 8.	0,85	0,90	0,90
	0,90	0,95	0,95		0,90	0,95	0,95

La question de savoir si le repos doit être de 10 ou de 15 minutes, dépend du lait à examiner. Le lait conservé demande toujours 15 minutes, si l'on veut se prémunir contre une augmentation du résultat par repos ultérieur. Afin de rechercher comment il en serait pour le lait frais ordinaire, j'ai fait 24 déterminations de graisse. Les résultats en furent notés après des repos de 10, 12, 15, 20, 30 et 60 minutes. Ces déterminations m'ont aussi éclairci la question de savoir si, une fois la graisse séparée, il se produit une saponification ou non. On peut dire de suite que dans aucun cas il n'y eut de saponification dans le cours d'une heure. D'ailleurs le tableau III fait voir les résultats. Les déterminations furent effectuées dans le cours de quatre jours, donc pas avec un même lait. Il fut acheté chaque jour du lait destiné aux petits enfants. Ce lait est le meilleur qu'on puisse obtenir, et c'est un lait mélangé typique. On parvint au résultat suivant : dans 56 % des échantillons, la quantité de matière grasse ne montait plus après 10 minutes, dans 68 % pas après 12 minutes et dans 100 % pas après 15 minutes de repos.

Donc, on obtient une sûreté de 100 % pour un résultat correct en faisant durer le procédé $3 \times 3 + 15$ minutes = 24 minutes, auxquelles s'ajoute ultérieurement environ 1 minute pour les agitations et retournements. La température du bain-marie était de 50°-52° C.

TABLEAU III

La durée nécessaire du dernier repos au bain-marie avant lecture est, pour le lait ordinaire de commerce, de 15 minutes. Température du bain-marie : 50°. Les déterminations ont été faites sur quatre échantillons différents. Les résultats à 30 et 60 minutes ne sont pas indiqués, s'étant partout trouvés semblables aux résultats à 15 et 20 minutes.

3 × 3 + 10, 12, 15, 20 minutes.

A					C				
	10 m.	12 m.	15 m.	20 m.		10 m.	12 m.	15 m.	20 m.
N° 1.	3,40	3 50	3,50	3,50	N° 13.	3,35	3,40	3,50	3,50
N° 2.	3,40	3,45	3,45	3,45	N° 14.	3,40	3,40	3,50	3,50
N° 3.	3,50	3,50	3,50	3,50	N° 15.	3,45	3,50	3,55	3,55
N° 4.	3,50	3,50	3,50	3,50	N° 16.	3 50	3 50	3,50	3,50
N° 5.	3,55	3,55	3,55	3,55	N° 17.	3,50	3,50	3,50	3,50
N° 6.	3,55	3,55	3,55	3,55	N° 18.	3,50	3,50	3,50	3,50
Moy. :	3,48	3,51	3,51	3,51	Moy. :	3,45	3,46	3,51	3,51

B					D				
	10 m.	12 m.	15 m.	20 m.		10 m.	12 m.	15 m.	20 m.
N° 7.	3,50	3,55	3,55	3,60	N° 19.	3,45	3,45	3,45	3,45
N° 8.	3,50	3,55	3,60	3,60	N° 20.	3,50	3,55	3,55	3,55
N° 9.	3,45	3,50	3,60	3,60	N° 21.	3,55	3,55	3,55	3,55
N° 10.	3,45	3,50	3,60	3,60	N° 22.	3,50	3,50	3,50	3,50
N° 11.	3,60	3,60	3,60	3,60	N° 23.	3,55	3,55	3,55	3,55
N° 12.	3,60	3,60	3,60	3,60	N° 24.	3,50	3,50	3,50	3,50
Moy. :	3,52	3,55	3,59	3,60	Moy. :	3,51	3,52	3,52	3,52

TABLEAU IV

Sensibilité de la méthode vis-à-vis de quantités de liqueur différentes.

	6,3 cc. liqueur.	6,5 cc. liqueur.	6,7 cc. liqueur.
I . . .	1,25	1,20	1,25
	1,20	1,30	1,30
	1,25	1,25	1,25
	1,30	1,30	1,25
Moy. :	1,25	1,26	1,26
II . . .	3,45	3,45	3,50
	3,45	3,45	3,50
	3,50	3,50	3,50
	3,55	3,50	3,50
Moy. :	3,49	3,48	3,50
III . . .	7,45	7,45	7,45
	7,45	7,40	7,45
	7,40	7,50	7,40
	7,45	7,45	7,45
Moy. :	7,44	7,45	7,44

Pour ce qui regarde les laits ayant un pourcentage plus élevé de graisse que celui des essais ci-dessus mentionnés, un assez grand pourcentage des échantillons atteint ordinairement le maximum après 10 minutes de repos. Afin de réaliser une sûreté parfaite un repos de 15 minutes est pourtant nécessaire ici encore.

En vue de la lecture des résultats, il faut, à l'aide du bouchon de caoutchouc, ajuster le plan inférieur de la colonne de graisse sur un des traits principaux du butyromètre ; on lira alors le pourcentage de graisse au point le plus bas de la face supérieure concave de la colonne.

Dans les échantillons de moins de 1 % de la matière grasse, celle-ci a, comme je l'ai déjà mentionné, de la difficulté à s'accumuler quantitativement, et la quantité de la graisse restante qui ne se sépare pas, monte ici à 0,1 % — 0,15 %. Le résultat sera donc trop faible, mais cette erreur — à laquelle donne d'ailleurs lieu également la méthode GERBER, bien que pour d'autres raisons — pourra être compensée par un autre mode de lecture. Le ménisque formé par la limite supérieure susmentionnée de la couche de graisse est en réalité limité par une courbe supérieure et une courbe inférieure. Pour une teneur en graisse supérieure à 1 %, on se sert, comme je l'ai dit précédemment, du point le plus bas de la courbe inférieure, mais pour moins de 1 % il faut lire d'après le point le plus haut de la courbe supérieure, ce qui donne au résultat une augmentation, en moyenne, de 0,05. Dans le cas où le lait contenant moins de 1 % de graisse aurait été fortement conservé, ce mode de lecture ne sera pas suffisant. Par conséquent, si l'on désire conserver un pareil lait pauvre en graisse, il sera recommandable de n'employer que 0,1/000 de l'agent de conservation et de recourir à une réfrigération, alors la lecture ne sera pas troublée par la conservation.

Le procédé HÖYBERG ne se prête pas, dans la forme ici décrite, à la détermination de la graisse dans le lait écrémé, la graisse restante n'étant aux plus bas pourcentages de graisse que d'environ 0,1 %, et les petites quantités de graisse ne s'accumulant que difficilement dans un temps raisonnable ; il en résulte que dans ces laits on ne pourra pas déterminer un pourcentage de graisse inférieur à environ 0,2-0,3 %. Cependant, comme la graisse n'est pas saponifiée, elle pourra être séparée par une centrifugation ; cette question sera traitée plus loin dans un chapitre particulier.

Nous avons maintenant à nous rendre compte des déterminations de la graisse dans la crème. A cet effet on se sert, comme il a été dit déjà, de la même liqueur que pour le lait, seulement dans d'autres proportions.

Le butyromètre a la même longueur que ceux employés pour le lait ; mais le tube gradué a une autre division (de 0 à 60 %) et les

élargissements des deux extrémités ont un autre volume que ceux qui y correspondent dans les butyromètres de lait. La graisse de la crème est déterminée avec une précision de 0,5 %.

A l'aide de la pipette, on peut enlever la crème comme le lait. La proportion est de 4,4 cc. de crème, et 4,0 cc. de liqueur. Comme les quantités de crème dont il s'agit sont minimales, l'inexactitude pourrait facilement devenir trop grande si le pipettage n'est pas juste. Pour la crème moins grasse, on n'a aucune difficulté à obtenir la précision nécessaire, mais quand il s'agit de la crème avec 20-30 %, pour ne pas parler des 50-60 %, une pipette ne peut pas servir. Ici on doit se servir d'une seringue.

Une seringue de crème présente le grand avantage que, si le piston ferme bien, toute la crème pourra être expulsée. Pour cette raison, elle ne doit renfermer que 4,36 cc., donc 0,05 cc. de moins que la pipette, si l'on veut parvenir au même résultat qu'avec celle-ci. Après avoir enlevé avec la pipette les quantités de crème et de liqueur indiquées ci-dessus, on bouche le butyromètre et on le secoue énergiquement une dizaine de fois en avant et en arrière dans le sens longitudinal. L'agitation si importante pour la détermination dans le lait, ne joue donc pas, dans le cas de la crème, un rôle prépondérant. Néanmoins, il convient de l'effectuer avec soin. La raison pour laquelle l'agitation est quelque peu moins importante pour la crème, doit être cherchée dans cette circonstance, que pour celle-ci il n'est exigé qu'une précision de 0,5 %, de sorte qu'une petite différence dans le résultat final, causée par une agitation différente, n'est pas remarquée.

Les opérations s'effectuent aussi beaucoup plus vite pour la crème que pour le lait, probablement parce que dans celle-là il se trouve moins de matières albuminoïdes, et que par centimètre cube de crème, on emploie plus de liqueur que par centimètre cube de lait. La proportion entre la liqueur et le lait est d'environ $\frac{2}{3}$, tandis que la proportion entre la liqueur et la crème est de $\frac{10}{11}$.

Après l'agitation, on place le butyromètre au bain-marie à 50° le bouchon en bas, et il y reste pendant 2 minutes, ensuite on l'en retire en le retournant une ou deux fois, en haut et en bas. Dans le cas de la crème, on ne doit pas secouer à ce moment, car cela faisant, on empêcherait la graisse de se séparer clairement. Après un autre repos de 2 minutes, on répète comme il a été décrit, et ultérieurement après 2 minutes de repos, on retourne encore le butyromètre comme précédemment.

A la fin, après un repos de 6-8 minutes au bain-marie, la graisse se sera séparée et l'on procédera à la lecture. Le repos total est donc de 3×2 minutes + 6-8 minutes = 12-14 minutes. Pour la crème fraîche, on peut, en fait, très bien omettre l'un des retournements,

de manière à ce que le tout ne dure que $1 \times 3 + 6.8$ minutes. La crème conservée demandant souvent un retournement de plus, nous avons maintenu dans l'instruction sur le mode d'emploi les trois retournements, en vue de la simplification.

Ce qui a été dit de l'importance de la température pour le lait conservé, s'applique également à la crème conservée. Aussi faut-il suivre bien exactement le mode d'emploi, quand il s'agit d'une crème de cette catégorie ou qui donne lieu à d'autres difficultés.

Le tube gradué du butyromètre de crème n'est pas si étroit, qu'après pipettage, la crème et la liqueur formeraient deux couches strictement délimitées, comme c'est le cas pour le butyromètre de lait. En effet, si le tube gradué était aussi étroit que celui des butyromètres à lait, une crème très grasse ne pourrait absolument pas s'y écouler. Tant qu'il n'est pas question de chauffage, la saponification ne joue aucun rôle ici ; seulement on ne doit pas prolonger à plusieurs heures le temps qui s'écoule avant l'agitation et la séparation de la graisse.

La crème et la liqueur se mélangent donc d'elles-mêmes — quoique très irrégulièrement — dans le large tube gradué. Ce fait n'a cependant pas d'importance, pourvu que plus tard on secoue l'échantillon de crème et qu'ensuite on le traite de la manière prescrite au bain-marie. Il n'y a qu'un seul cas où cette petite irrégularité puisse avoir de l'influence sur la détermination, à savoir, si l'on désire l'accélérer à l'aide d'une élévation de la température du bain-marie, par exemple à 60°. Ceci pourra bien se pratiquer pour la crème fraîche ordinaire, mais pas pour la crème conservée. On peut alors se borner à retourner une fois après 3-4 minutes, et après un repos ultérieur de 4-5 minutes, on fera la lecture de la graisse. Dans ce cas une détermination de crème peut s'effectuer en 8 minutes environ. Ce n'est que dans le cas où la crème aurait été abandonnée en repos pendant quelque temps avec la liqueur, avant l'agitation et le repos au bain-marie, qu'on ne pourra pas élever la température à 60° sans avoir des difficultés, sous la forme de pellicules et de bulles pendant la lecture.

Donc, par le repos au froid avec la crème, la liqueur aura rendu plus difficiles l'attaque des matières albuminoïdes, cas pareil à celui mentionné à propos du lait conservé, où l'agent conservateur avait influé sur ces matières. Mais à 50° elles subissent sans difficulté la décomposition. En conséquence, si l'on veut accélérer la détermination de la graisse dans un échantillon de crème en élevant la température à 60°, le mélange par agitation et la mise au bain-marie doivent suivre immédiatement le pipettage.

Avant de commencer la discussion des tableaux, nous allons mettre en lumière comment le résultat définitif dépend de l'exacti-

tude du pipettage. Cette dépendance a été caractérisée dans des mémoires antérieurs, comme la « sensibilité » de la méthode. Sous la forme primitive de celle-ci, cette sensibilité était assez considérable.

On verra, par le tableau 4, que les limites pour le lait sont assez larges. La quantité enlevée normalement est, comme il a été dit, de 6,5 cc., mais on pourra, sans que les résultats s'en modifient sensiblement, employer 6,3 ou 6,7 cc. — donc jusqu'à 0,2 cc. de chaque côté de la valeur établie. On pourra même aller encore un peu plus loin, en ce qui concerne le pipettage inexact ; mais si l'on fait terminer la pipette en haut par un mince tube portant le trait circulaire jusqu'auquel on doit faire monter le liquide, il est à noter que 0,2 cc. en plus ou en moins signifiera que, lorsque le liquide sera enlevé, sa surface dans le tube se trouvera distante d'environ 2-3 cc. au-dessus ou au-dessous du trait. Ainsi donc, les limites sus-indiquées sont déjà assez larges pour permettre de faire usage de la méthode dans la pratique, où il importe que la rapidité d'exécution ne soit pas entravée par des exigences excessives faites au point de vue de l'attention et des soins méticuleux. Pour ce qui regarde la crème, la « sensibilité » de la méthode paraît être encore moindre.

Après ces notions, en partie théoriques, nous allons démontrer ci-dessous comment cette nouvelle méthode à liqueur unique se comporte à l'égard du lait et de la crème. Comme terme de comparaison, nous avons constamment adopté, pour les échantillons de lait, le procédé de GERBER, que des recherches approfondies et une longue application ont fait généralement reconnaître comme étant un procédé rapide presque absolument sûr (voir spécialement le Compte rendu n° 116 de (*Försöglaboratoriet*)). C'est seulement dans les cas où le procédé HÖYBERG et celui de GERBER accusent des écarts excédant 0,1 % de graisse, que nous avons cru devoir recourir au procédé RÖSE-GOTTLIEB, afin de décider celui qui est exact.

(A suivre.)

DE LA CONSERVATION ET DE L'ASSAINISSEMENT DU LAIT

Par le Dr Henri STASSANO

— SUITE —

Le chauffage du lait quels qu'en soient la durée et le degré de la température atteinte au-dessus de la température qu'il a à la sortie de la mamelle, détermine fatalement des transformations plus ou moins accusées dans sa constitution. Il en est qui sont avantageuses en particulier pour l'alimentation des enfants : en premier lieu, la coagulation de la lactalbumine et de la lactoglobuline et même les modifi-