

<b>Zeitschrift:</b>	Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
<b>Herausgeber:</b>	Bundesamt für Gesundheit
<b>Band:</b>	40 (1949)
<b>Heft:</b>	1-2
<b>Rubrik:</b>	Bericht über die 60. Jahresversammlung der Schweizerischen Gesellschaft für analytische und angewandte Chemie am 10. und 11. September 1948 in Sitten = Compte-rendu de la 60e assemblée annuelle de la Société suisse de chimie analytique et appliquée les 10 et 11 septembre 1948 à Sion

### Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

### Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

### Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 27.01.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

**MITTEILUNGEN**  
AUS DEM GEBIETE DER  
**LEBENSMITTELUNTERRSUCHUNG UND HYGIENE**

VERÖFFENTLICHT VOM EIDG. GESUNDHEITSAMT IN BERN  
Offizielles Organ der Schweiz. Gesellschaft für analytische und angewandte Chemie

**TRAVAUX DE CHIMIE ALIMENTAIRE  
ET D'HYGIÈNE**

PUBLIÉS PAR LE SERVICE FÉDÉRAL DE L'HYGIÈNE PUBLIQUE À BERNE  
Organe officiel de la Société suisse de chimie analytique et appliquée

---

ABONNEMENT: Schweiz Fr. 15.— per Jahrgang. Preis einzelner Hefte Fr. 2.75  
Suisse fr. 15.— par année. Prix des fascicules fr. 2.75

---

BAND XL

1949

HEFT 1/2

---

**Bericht über die 60. Jahresversammlung  
der Schweizerischen Gesellschaft  
für analytische und angewandte Chemie**

am 10. und 11. September 1948 in Sitten

**Compte-rendu de la 60<sup>e</sup> Assemblée annuelle  
de la Société suisse de chimie analytique et appliquée**

les 10 et 11 septembre 1948 à Sion

*Teilnehmer — Participants*

*A. Gäste — Invités*

M. le Conseiller d'Etat Gard, Sion  
Dr. Th. Lichtenhan, Lonza AG., Visp  
Dr. W. Syz, Aluminiumfabrik, Chippis  
Dr. Ing. A. Comtesse, Monthei  
Prof. Dr. K. Clusius, Zürich  
Prof. Dr. E. Cherbuliez, Genève

A. C. Andersen, Kopenhagen  
 R. C. Chirnside, London  
 G. Destrée, Bruxelles  
 M. Durier, Paris  
 E. Gérard, Bruxelles  
 Dr. J. Grossbusch, Luxembourg  
 Dir. Dr. F. Hoeke, den Haag  
 Dr. J. H. v. d. Kamer, Utrecht  
 Prof. Dr. S. Krauze, Warschau  
 Prof. Dr. W. Kuhn, Basel  
 Dr. med. G. Viollier, Basel

*B. Einzelmitglieder — Membres individuels*

F. Achermann, Neuchâtel	E. Junker, Zürich
F. Adam, Luzern	F. Kägi, Liebefeld-Bern
F. Bachmann, Zürich-Örlikon	F. Kunz, Zürich
S. Bayard, Visp	R. de Landerset, Fribourg
M. Betschart, Brunnen	F. Leutwyler, Bischofszell
W. Bissegger, Solothurn	G. Lüscher, Gümligen
G. Bonifazi, Lausanne	E. Matthey, Lausanne
M. Bornand, Lausanne	G. Meyer, Lenzburg
E. Briner, Genève	H. Mohler, Zürich
H. Burckhardt, Basel	M. Morgenthaler, Vevey
E. Bürgin, Neuhausen	G. Mosimann, Meilen
L. Chardonnens, Fribourg	M. Mottier, Berne
M. Christen, Chur	M. Obrecht, Neukirch-Egnach
K. Escher, Kemptthal	Ch. Perriard, Sion
H. Forster, Zürich	E. Philippe, Frauenfeld
E. Gerhard, Liestal	J. Pritzker, Muttenz
L. Gisiger, Liebefeld-Bern	P. Regazzoni, Lugano
R. Grand, Aarau	W. Ritter, Liebefeld-Bern
H. Hadorn, Basel	A. Roethlisberger, Sanary s/mer
P. Haller, Bern	J. Ruffy, Berne (France)
A. Hasler, Liebefeld-Bern	C. Schenk, Thun
E. Helberg, Zürich	W. Schoch, Liebefeld-Bern
O. Högl, Bern	A. Schürch, Zürich
K. Hüni, Liebefeld-Bern	H. Siegrist, Wädenswil
J. Hux, Zug	M. Staub, Zürich
E. Jaag, Biel	A. Stettbacher, Zürich
R. Jahn, Bern	Th. Studer, Grosshöchstetten
S. Janett, Zürich	H. Sturm, Zürich
A. Jaton, Konolfingen	P. Urech, Neuhausen

G. Vegezzi, Bern  
J. Venetz, Sion  
R. Viollier, Basel  
H. Vogel, Glarus  
G. Wick, Gümligen  
A. Widmer, Zürich  
K. Wiss, Aarau

O. Wyler, Bern  
J. Wytttenbach, Basel  
C. Zäch, Wädenswil  
B. Zurbriggen, Sion  
M. Zürcher, Zürich  
A. Zust, Luzern

### *C. Kollektivmitglieder — Membres collectifs*

Galactina und Biomalz AG., Belp, H. Kramer, H. Lempen  
Afico S.A., La Tour-de-Peilz, W. Rothmayr, Ed. Junker  
van Baerle & Co., Münchenstein, A. van Baerle  
Chocolat Suchard S.A., Neuchâtel, Ph. Sjöstedt  
Hefefabriken AG., Hindelbank, T. Buntzen

### ***1. Sitzung***

Freitag, den 10. September 1948, 14.30 Uhr  
im Grossrats-Saal

Wiederum hat sich eine erfreuliche Zahl von Teilnehmern zur diesjährigen Jahresversammlung eingefunden, die von Kollege Dr. *Venetz* mit lobenswerter Gründlichkeit vorbereitet wurde. Es sei ihm auch an dieser Stelle für seine grosse Mühehaltung der herzlichste Dank ausgesprochen.

Kurz nach 14.30 Uhr kann Präsident Dr. *R. Viollier* die Jahresversammlung eröffnen und begrüsst die Teilnehmer, unter denen sich eine ganze Reihe ausländischer Gäste befindet, mit folgenden Worten:

Messieurs les représentants des autorités fédérales, cantonales et communales,  
Messieurs les délégués des nations amies et des sociétés confraternelles,  
Mesdames et Messieurs nos invités,  
Messieurs et chers Collègues!

L'an dernier nous nous retrouvions au cœur de la Suisse, dans l'Oberland bernois, que nous eûmes la chance de pouvoir admirer dans toute sa splendeur par un temps vraiment idéal. Cette année nous avons choisi pour notre réunion le pays du soleil, notre beau canton du Valais, sentinelle avancée à la frontière sud du pays, qui se sent bien protégé par le double rempart des Alpes valaisannes, avec leurs cimes candides et altières, leurs vallées sauvages ou aménées, et leurs stations climatériques si justement renommées.

Et nous jouissons aujourd’hui de l’hospitalité de la belle ville de Sion, d’un cachet si original avec son grandiose décor formé par de riantes collines au flanc desquelles s’étagent des vignobles renommés et que surmontent de sévères châteaux. Je ne rappellerai ici que ceux de Valère et de Tourbillon, qui ont été comparés à deux puissants nids d'aigles perchés sur leurs rochers, témoins immuables des nombreux événements, heureux ou tragiques, qui se sont déroulés au cours des siècles dans cette partie de la vallée du Rhône.

Ce n'est pas la première fois que la capitale du Valais nous accueille. Pour ma part je conserve un souvenir lumineux des deux assemblées de Sion auxquelles j'eus le plaisir de prendre part: en 1909 et, vingt-quatre ans après, en 1933.

Tous ceux qui se souviennent de ces belles journées et avec eux bon nombre de jeunes collègues ont tenu à répondre à l'appel de nos amis valaisans. Nos remerciements pour les travaux préparatoires et pour la parfaite organisation vont d'abord à notre collègue et ami Dr. *Venetz*, à ses dévoués collaborateurs, et surtout aux Directions des industries chimiques du Valais, qui ont contribué par des dons généreux à la réussite de cette assemblée. La coquette brochure-programme que vous avez reçue vous aura donné un avant-goût des réjouissances variées qui vous attendent. — Sûr et certain que nous allons au-devant d'heures très agréables, je vous souhaite à tous, Mesdames et Messieurs, la plus cordiale bienvenue.

Comme les années précédentes nous avons lancé des invitations dans tous les pays avec lesquels nous entretenons des relations d'amitié et de confraternité et j'ai le plaisir de saluer ici la présence de 10 délégués étrangers auxquels nous disons tout spécialement: Soyez les bienvenus sur la terre helvétique, profitez avec nous d'un répit de deux jours et, laissant de côté soucis et politique, ouvrons nos yeux, nos cœurs aux joies de ce séjour.

Permettez-moi de vous donner les noms de ces délégués pour que nous apprenions à mieux les connaître:

#### Délégués étrangers:

M. *R. C. Chirnside*, F.R.I.C. représentant la Society of public analysts and other analytical chemists, à Londres,

M. *A. Durier*, Inspecteur général de la répression des fraudes, à Paris,

M. *G. Destrée*, Directeur du laboratoire central d'analyse des denrées alimentaires, et

M. *E. Gérard*, Inspecteur en Chef, directeur de l'Inspection des denrées alimentaires, tous deux à Bruxelles,

M. le Dr. *F. Hoeke*, Directeur du bureau royal pour l'analyse des marchandises à la Haye, et

M. le Dr. *J. H. v. d. Kamer*, de l'Institut central pour l'analyse des denrées alimentaires, à Utrecht, auquel s'est joint

M. *de Vries*, du même institut,

M. le Dr. *Grossbusch*, Préposé de la Station de chimie agricole d'Ettelbruck,

M. *A. C. Andersen*, Directeur de l'institut de recherches agronomiques à Copenhague,

M. le Prof. *Krauze*, Chef du contrôle des denrées alimentaires à Varsovie.

Se sont excusés:

M. le Dr. *A. Bakke*, Conseiller commercial de la légation royale de Norvège, à Berne, et

M. le Prof. *H. Pallmann*, Recteur de l'Ecole Polytechnique Fédérale, qui avait été désigné par le Conseil Supérieur de la recherche Scientifique à Madrid comme représentant des collègues espagnols.

L'an dernier M. le Professeur *Krauze*, de Varsovie, qui aurait dû représenter la Pologne à notre congrès et en fut malheureusement empêché au dernier moment, transmit à notre vice-président, M. le Prof. *Högl*, une proposition qu'il aurait voulu formuler lui-même au milieu de nous. Celle-ci tendait au regroupement des chimistes des denrées alimentaires (*Lebensmittelchemiker*) des divers pays dans une société internationale de chimie bromatologique sous l'égide de notre société. — Le Comité de la Société a étudié cette proposition et nous espérions pouvoir faire coïncider notre assemblée avec une prise de contact entre les délégués des différentes nations. Mais les travaux préliminaires nécessaires ont été retardés par divers contrebâts et nous avons dû renoncer à cette idée.

Ce n'est pourtant que partie remise, je l'espère, car le rapprochement des collègues de tous les pays qui entrent en ligne de compte ne peut être que fructueux et profitable. Et c'est bien dans notre tradition suisse de jeter des ponts pour réunir ce qui est encore séparé. Par sa position géographique et par sa culture européenne, la Suisse est appelée à servir de trait-d'union. Et ceci non seulement entre les diverses nations que réunissent soit des idéals ou des intérêts communs, soit des liens de parenté culturelle, mais aussi entre les peuples fourvoyés sous le régime de dirigeants plus ou moins qualifiés, qui leur ont inspiré ou imposé des sentiments de malveillance ou de méfiance qui doivent enfin disparaître. —

Si nos réunions scientifiques contribuent à ce rapprochement, nous n'aurons pas seulement mérité de la science, mais nous aurons aussi servi la cause de l'humanité. — C'est dans l'espoir que nous aussi pourrons poser de nouveaux jalons sur la route qui nous est ainsi tracée que je déclare ouverte notre 60e assemblée annuelle.

An diese sehr beifällig aufgenommenen Worte des Präsidenten schliesst sich unmittelbar das erste Hauptreferat an, von Prof. Dr. K. Clusius, Zürich, über:

## **Analytische Methoden bei der Forschung mit inaktiven Isotopen**

Der Vortrag, fliessend und frei vorgetragen, erntet reichen Beifall. Zur Zeit steht das Manuskript des Vortrages leider noch nicht zur Verfügung.

## **Jahresbericht**

Der Präsident legt folgenden Jahresbericht vor:

### **Rapport annuel du président 1947/1948**

#### *1. Procès verbal*

Cette année nous pouvons enregistrer un léger progrès, le rapport sur l'assemblée de Thoune ayant paru il y a un peu plus de deux mois dans le premier cahier (1—3) des «Mitteilungen». — J'aime à croire que vous l'aurez lu et que vous n'avez pas d'observations à faire à la rédaction de ce compte-rendu, pour l'élaboration soignée duquel nous remercions tout spécialement M. le Dr. Jaag, notre dévoué secrétaire.

#### *2. Mouvement des membres*

Malgré nos efforts et nos recommandations, nous n'avons pas réussi encore à atteindre la quatrième centaine et le nombre de nos membres est resté stationnaire: l'admission de 6 nouveaux membres (4 individuels et 2 collectifs) est en effet plus que compensée par la perte de 2 membres d'honneur, de 5 membres individuels et d'un membre collectif. Avec deux candidats en vue nous arrivrions ainsi au même total que l'an dernier.

Il faut donc absolument que nous tâchions, chacun dans les conditions spéciales de son champ d'activité et dans la mesure de ses forces, de recruter parmi nos amis et connaissances de nouveaux membres, afin que notre société progresse, ou tout au moins que notre effectif ne diminue plus!

En attendant de voir se réaliser nos espérances, j'ai le plaisir de renouveler à nos nouveaux membres ici présents nos meilleurs souhaits de bienvenue dans notre société et de donner lecture de leurs noms. Ce sont:

M. A. Jaton, Chef des laboratoires de la Société Laitière des Alpes bernoises à Konolfingen-Stalden,

M. le Dr. Fr. Gerber, Assistant à l'Institut de médecine légale de l'Université de Berne,

M. Rud. Meier, Chimiste à Zurich, et

M. E. Bosset, Inspecteur cantonal des denrées à Lausanne, puis la S.A. Lindt & Sprüngli à Kilchberg, Zurich, ainsi que l'école de frutticulture «Schweizerische Fachschule für Obstverwertung», à Wädenswil.

Par contre Messieurs les Drs. Schweizer, Moor et Streuli ont donné leur démission pour des raisons diverses et la Société Aligena à Bâle, ayant fermé ses laboratoires, est aussi sortie de notre société.

L'année qui vient de s'écouler a été cruelle pour notre société, car nous avons perdu au cours de cet exercice 2 membres d'honneur et 2 fidèles membres individuels, qui étaient des nôtres depuis de nombreuses années.

Au début du mois de novembre 1947 nous parvenait la triste nouvelle du décès de notre ami, Eugène Rosenstiehl, le sympathique inspecteur des denrées alimentaires du canton de Vaud, qui venait de succomber, dans sa 58e année, à une longue maladie vaillamment supportée.

Né le 27 janvier 1890 à Lausanne, Eugène Rosenstiehl y fit toutes ses classes et poursuivit ses études à l'Université, où il obtint en novembre 1911 le diplôme de chimiste analyste. Deux ans plus tard il y joignait le diplôme fédéral de chimiste pour l'analyse des denrées alimentaires.

Entré comme chimiste en janvier 1912 au laboratoire cantonal de contrôle et d'analyse, il était nommé, en novembre 1928, inspecteur cantonal des denrées alimentaires et des drogueries. — Il était membre de la commission cantonale des Eaux, de la commission d'examen de la Société vaudoise des cafetiers et restaurateurs, de la commission d'admission et de contrôle du Comptoir suisse, de la commission d'achat des denrées pour l'Etat de Vaud et d'autres encore. — Il présida le jury des expositions internationales de boulangerie à Lausanne et Vevey en 1929 et 1937 et fut membre du jury pour les vins vaudois à l'Exposition nationale de Zurich en 1939.

Eugène Rosenstiehl, qui faisait partie de notre société depuis 1912 et que nous avions proclamé membre libre l'an dernier à Thoune, était avant tout un aimable camarade, dont le caractère enjoué, la joviale bienveillance, la conversation spirituelle rendaient le commerce des plus agréables. Aussi s'était-il acquis une grande popularité et d'innombrables amitiés.

Nous renouvelons ici à l'adresse de sa veuve, Mme. Rosenstiehl, et de tous ses parents et amis l'expression de notre vive sympathie.

Quelques jours après la perte de cet excellent collègue vaudois nous recevions de St-Gall l'annonce mortuaire de notre vénéré membre d'honneur et ancien président, le Dr. Hugo Rehsteiner, ancien chimiste cantonal de St-Gall, qui

s'était éteint tranquillement à l'âge de 83 ans, après une carrière féconde et une vie toute de dévouement à la science, à sa famille et à son pays.

*Hugo Rehsteiner*, né à St-Gall le 9 octobre 1864, était fils et petit-fils d'hommes remarquables pour leur amour pour les sciences naturelles, auxquelles ils s'adonnèrent à côté des devoirs de leur profession et dans le domaine desquelles ils s'acquièrent un nom admiré et respecté. Aussi fut-ce tout naturellement que le jeune Hugo s'enthousiasma pour l'étude de la nature, d'abord au Gymnase puis à l'Ecole Polytechnique Fédérale, où, après un apprentissage dans une pharmacie de Bâle et un stage comme assistant à Morat et Cossy, il fit (selon la coutume d'alors) ses études de pharmacie. Disciple assidu des Professeurs *Albert Heim* et *Carl Schröter*, après avoir passé son examen comme pharmacien en 1890, il poursuivit ses études de botanique à Berne, chez le Professeur *Edouard Fischer* et présenta en 1892 sa thèse de doctorat «Über die Entwicklung der Fruchtkörper einiger höheren Pilze».

C'était alors l'époque où la bactériologie prenait son essor et *Hugo Rehsteiner*, se sentant attiré par cette nouvelle science, voulut en approfondir la technique par des études spéciales à l'institut d'hygiène de l'Université de Berlin où il passa 6 mois. — Rentré en 1893 dans sa ville natale, il s'appropria encore de solides connaissances dans l'analyse des denrées alimentaires sous la direction du Dr. *Ambühl* au laboratoire cantonal de St-Gall.

Lorsque son père, propriétaire de la Sternapotheke, se fut retiré de la direction des affaires en 1895, *Hugo Rehsteiner* reprit la pharmacie paternelle mais continua son activité comme bactériologue et ouvrit bientôt, avec un médecin de ses amis, un laboratoire particulier de bactériologie. — En 1908 le canton de St-Gall construisit le nouveau laboratoire cantonal à la Frohbergstrasse et lui adjoignit une section de bactériologie, qui devait servir non seulement au contrôle bactériologique des denrées alimentaires, mais répondre aussi aux exigences du corps médical qui réclamait depuis longtemps un tel laboratoire. Le Dr. *Rehsteiner* était tout désigné pour prendre la direction de cette nouvelle section et c'est en 1911 qu'il passa de l'officine privée au laboratoire d'état, devenant en même temps l'adjoint du chimiste cantonal.

A la mort du Dr. *Ambühl* en 1923 il était tout naturel que le Dr. *Rehsteiner* lui succéda et notre excellent collègue devint chimiste cantonal, poste qu'il occupa jusqu'en 1935 avec une conscience et une distinction qui n'avaient d'égal que son extrême modestie. Il participa très activement à la Revision du Manuel suisse des denrées alimentaires, qui était publié sous l'égide de notre société et fut membre de diverses commissions. Outre les devoirs de sa charge, il trouva le temps de servir son pays dans de multiples occasions; c'est ainsi qu'au militaire il fut commandant de la place de St-Gall pendant la 1ère guerre mondiale et avança jusqu'au grade de lieutenant-colonel. — Depuis sa retraite, il se voua avec un entrain soutenu aux diverses occupations que lui avaient procuré ses mérites, soit comme président ou vice-président de diverses sociétés, soit comme membre du conseil de l'instruction publique de son canton.

En effet, à côté de son activité professionnelle, *Hugo Rehsteiner* joua un rôle important dans la vie intellectuelle de son canton et de sa ville natale: membre de la société saint-galloise des sciences naturelles il en fut tour à tour secrétaire, vice-président, président, puis de nouveau vice-président, appartenant ainsi au Comité pendant plus de 50 ans (1895—1947). De ses publications variées la plupart concerne, à côté de l'analyse bactériologique des eaux, de nombreuses conférences ou discours d'ouverture d'assemblées présentés à la Société des sciences naturelles. En 1930 il eut l'honneur et le mérite d'être président annuel, chargé d'organiser l'assemblée de la Société Helvétique des sciences naturelles. Il était aussi membre de la commission cantonale pour la protection de la nature. — Entré dans notre société en 1897, le Dr. *Rehsteiner* la présida de 1930 à 1938, et tous ceux qui firent alors partie de notre Verein (association) se souviennent de la façon exemplaire dont il guida notre petit navire pendant ces 9 années. On se souviendra longtemps de ses rapports annuels si bien préparés et de ses discours de bienvenue aux banquets des assemblées annuelles, dans lesquels il trouvait toujours l'occasion de saisir les rapports historiques ou géographiques du lieu de l'assemblée. *Hugo Rehsteiner* fut un président modèle, un homme à l'âme noble et au cœur d'or. Il était membre d'honneur depuis 1935. Nous garderons de cet ami sûr et fidèle, de ce collègue d'une rare distinction un souvenir reconnaissant et durable.

Avec le Professeur *Adrien Evéquoz*, chimiste cantonal honoraire du canton de Fribourg, décédé subitement d'une crise cardiaque le 11 février 1948 dans sa 80e année, notre société a perdu un autre de ses membres les plus fidèles et les plus méritants.

*Adrien Evéquoz*, originaire du Valais, était venu se fixer à Fribourg après qu'il eut terminé ses études au Polytechnicum de Zurich et fait un stage au laboratoire cantonal de Lausanne. Il s'attacha à Fribourg par les liens du mariage avec une descendante d'une des plus anciennes familles fribourgeoises et il fit une carrière de plus de quarante-cinq ans au service de l'Etat, partageant ses compétences et son dévouement entre le Laboratoire cantonal et l'enseignement dans plusieurs établissements d'instruction de la ville et du canton.

C'est en 1894 qu'il débuta comme chimiste cantonal et chimiste de la station laitière. Outre les travaux scientifiques que lui imposaient cette double occupation, *Adrien Evéquoz* prêta ses services dans l'enseignement secondaire, professant tour à tour la chimie au Technicum, à l'Ecole de Commerce du Collège St-Michel, à l'Ecole supérieure de Commerce des jeunes filles, enfin à l'Ecole d'agriculture et de laiterie.

D'une robuste constitution, doué d'une grande capacité de travail, *Adrien Evéquoz*, accomplit un travail énorme, dans des conditions qui ne furent pas toujours des plus faciles. Il trouva le temps de faire partie de diverses commissions telles que la Commission suisse du lait, la Commission d'experts du

Service fédéral de l'hygiène publique, la Commission fédérale des examens pour l'obtention du diplôme de chimiste des denrées alimentaires, la Commission de l'Usine à gaz de Fribourg, la Commission pour la revision du Manuel Suisse des denrées alimentaires, etc.

En 1939 *Adrien Evéquoz* prit sa retraite après une carrière des plus fructueuses. En témoignage de reconnaissance spéciale, le Conseil d'Etat lui décerna le titre de chimiste cantonal honoraire. Très attaché à son laboratoire il revenait de temps en temps y voir son successeur et, après la mort de celui-ci (qui malheureusement le précédait dans la tombe), il reprit pendant quelque temps la direction ad interim du laboratoire.

Membre de notre Société depuis 1893, *Adrien Evéquoz* fut nommé président en 1913 et fut reconduit jusqu'en 1926. Il a donc présidé à nos destinées pendant 13 ans, au cours desquels nous eûmes l'occasion d'apprécier la noblesse de son caractère, la distinction de sa personne, la solidité de ses principes, la sincérité de son patriotisme. D'une bonté souriante, d'une amabilité chevaleresque, il trouvait pour chacun le mot approprié et beaucoup recherchaient son amitié et son commerce.

Nous nous souviendrons longtemps encore de ce collègue aimé et respecté, dont la vie toute de travail et de dévouement sera un lumineux exemple pour nous et nos jeunes membres.

Le Dr. *Otto Allemann*, décédé à Bâle le 30 avril 1948 à la suite d'une maladie patiemment supportée, était né le 8 septembre 1880 à Oberbipp et avait fait ses études à l'Université de Berne, où il obtint en 1902 le titre de docteur. L'année suivante il était appelé à l'Etablissement fédéral de Liebefeld (section de bactériologie et technologie laitière) où, grâce à ses capacités étendues et variées, il fut bientôt nommé chimiste-adjoint. Il déploya dans ces fonctions une activité remarquable dont témoignent les nombreux travaux qu'il publia de 1905 à 1916 dans l'Annuaire agricole de la Suisse. On y retrouve le travailleur consciencieux, le chercheur infatigable, doué d'un sens spécial pour les réalités pratiques. En 1916 le Dr. *Allemann* entra comme chimiste et bactériologue dans la S.A. Ciba à Bâle, où il s'occupa également d'exams sériologiques et de recherches sur les vaccins. Dans les dernières années de son activité, il exécuta les analyses bactériologiques concernant les dérivés sulfamidés Cibazol et Elkosin. En outre c'est à lui qu'incombaient les essais bactériologiques pour le contrôle de la pureté de tous les produits mis dans le commerce par la Société Ciba.

Le Dr. *Allemann* était un savant modeste et désintéressé, qui n'a jamais cherché à se mettre en valeur. Bactériologue éminent, il a rendu de grands services à sa maison, au développement de laquelle il a aussi efficacement contribué. Bienveillant et affable avec ses subordonnés, collaborateur dévoué et zélé de ses supérieurs, le Dr. *Allemann* a laissé dans la grande entreprise un souvenir ineffaçable.

Il appartenait à notre société depuis 1912 et bien que fréquentant rarement nos assemblées, il était un membre fidèle, prenant grand intérêt à nos travaux. L'an dernier, nous lui avions décerné le titre de membre libre, dont il n'a malheureusement profité que beaucoup trop peu de temps. Nous conserverons un souvenir également fidèle de cet homme de valeur.

En dernière heure, j'ai appris le décès d'un collègue qui fut membre de la société pendant près de 30 ans, M. le Dr. *Schuppli*, adjoint du chimiste cantonal de Zurich, puis professeur au Technicum de Winterthour. Il avait démissionné il y a quelques années pour des raisons de santé, mais beaucoup d'entre nous se souviennent de ce bon camarade.

Messieurs et chers Collègues, veuillez vous lever de vos sièges pour honorer la mémoire de nos confrères disparus et leur accorder une minute de pieux souvenir.

En résumé, comme je l'ai indiqué au début de ce chapitre, notre société se compose aujourd'hui de:

membres d'honneur	10
membres individuels	200
membres collectifs	82
total	<u>292</u>

### *3. Affaires courantes*

Votre comité a tenu cette année 4 séances plénières, dont une fut combinée avec une rencontre des chimistes cantonaux (en majorité dans notre comité) pour ne pas grever trop fortement notre budget annuel. Si l'on y ajoute une séance en petit comité, convoquée en septembre et subventionnée par le comité d'organisation de l'assemblée de Thoune, pour le compte-rendu financier final, vous aurez un tableau complet de nos déplacements officiels.

Le 16 janvier nous étions à Olten pour y discuter entre autres la question de la réimpression de notre brochure «Seifen und Waschmittel» qui avait été soulevée par son éditeur. Il fut décidé de préparer une édition revue et corrigée et les membres de notre Commission des savons furent invités à présenter leurs propositions à cet effet. Tous ces membres répondirent à notre appel et m'envoyèrent leurs propositions, ce dont je tiens à les remercier ici. — Malheureusement l'éditeur, pressenti par notre caissier, nous fit entrevoir que la nouvelle édition viendrait à coûter beaucoup plus qu'il ne se le figurait d'abord et il nous conseilla d'attendre des temps plus propices, car un prix trop élevé aurait porté préjudice à l'écoulement de l'édition de 1000 exemplaires qui avait été prévue. Il fut donc décidé dans la prochaine séance du comité de surseoir à cette ré-

impression. Je m'excuse ici auprès des membres de la commission des savons de n'avoir communiqué qu'à quelques-uns d'entre eux avec qui j'eus l'occasion de parler cette décision, mais j'étais à ce moment si surchargé de travail que j'ai oublié d'en faire part à tous.

A la séance d'Olten nous discutâmes encore la question de notre participation à la cotisation de la Suisse pour l'Union internationale de chimie, question qui vous sera soumise en détail après ce rapport, et la proposition du Prof. *Krauze* à laquelle j'ai fait allusion dans ma petite allocution au début de cette séance.

La séance du 13 mai à Zurich (qui coïncidait avec un voyage des chimistes cantonaux à Vaduz) fut consacrée avant tout à la discussion du programme de notre assemblée. De même une séance du 26 juin à Sion, pour arrêter les lignes générales du programme de l'assemblée, nous réunit ici comme invités du comité local. Enfin il y a à peine 3 heures nous tîmes comme d'habitude notre dernière séance pour le tour d'horizon d'usage.

#### a) *Relations avec les sociétés sœurs*

Comme l'an dernier votre président fut invité à l'assemblée générale de la Société Suisse des Industries chimiques qui suivit la réunion du Conseil de la Chimie Suisse, le 13 décembre 1947 à Zurich, ainsi qu'à l'assemblée d'hiver de la Société Suisse de Chimie du 29 février de cette année à Lausanne.

Nous avons répondu à ces aimables égards en invitant les présidents des deux sociétés à notre assemblée de Sion et j'ai le plaisir de saluer ici, en même temps que le Président du Conseil de la Chimie Suisse, M. le Prof. *Briner*, qui est toujours des nôtres et qui représente aussi la Société Suisse des Industries Chimiques, M. le Prof. *Werner Kuhn*, président de la Société Suisse de Chimie.

#### b) *Relations internationales*

Je ne veux pas empiéter sur le rapport du président du Conseil de la Chimie suisse, que nous aurons le plaisir d'entendre tout à l'heure, ni me répéter au sujet des délégués étrangers et des tentatives de fonder une société internationale. Nous avions espéré pouvoir saluer ici un représentant des collègues allemands, en la personne du Prof. Dr. *S. W. Souci*, ou de son collègue, le Dr. *Rindeler*, tous deux de Munich, mais n'avons reçu aucune confirmation de leur participation à notre assemblée.

Signalons encore que nous sont parvenues trois invitations à des congrès internationaux: d'abord au Congrès international de chimie analytique qui eut lieu du 1er au 3 juin à Utrecht et auquel notre vice-président, M. le Prof. *Högl* prit part, comme représentant du Service fédéral de l'hygiène publique, — puis au 7e congrès international des industries agricoles, qui se tint à Paris du 12 au 18 juillet, — enfin au 21e congrès de chimie industrielle, qui s'ouvre demain à Bruxelles et auquel nous ne pouvons de ce fait guère participer.

c) Nous n'avons pas eu à enregistrer de nouveaux cantons dans la liste de ceux qui nous accordent leur appui moral et financier, mais j'ai le plaisir de vous annoncer que, grâce à l'initiative de notre ami, M. le Dr. *Achermann*, le canton de Neuchâtel a porté de 25 à 50 fr. sa subvention annuelle et la Commission Suisse pour le commerce des vins nous a offert de s'abonner à notre organe moyennant une contribution annuelle de fr. 50.—. Nous remercions M. le Dr. *Achermann* de ses démarches couronnées de succès.

d) Les commissions spéciales que notre société a plus ou moins créées n'ont pas eu à se réunir au cours de l'exercice 1947—1948. Seule la Commission des savons a eu à s'occuper de la revision de son ouvrage «Seifen und Waschmittel», ainsi que je l'ai mentionné tout à l'heure.

e) En ce qui concerne les nouvelles personnelles il n'est parvenu à ma connaissance que la distinction de M. le Prof. *A. Stoll*, qui a reçu le titre de docteur honoris causa de la faculté de médecine de l'Université de Munich, en reconnaissance de ses nombreux travaux dans le domaine de la chimie des médicaments.

Il ne me reste plus qu'à souhaiter que l'année 1948—1949 soit une année de progrès et de travail pacifique pour notre société, pour la science en général et pour notre patrie.

*R. Viollier*

Der Jahresbericht wird mit grossem Beifall aufgenommen und ohne Einwände genehmigt.

### **Kassabericht**

Dr. *L. Gisiger*, unser bewährter Kassier, gibt in gekürzter Form Aufschluss über den Stand der Kasse. Der Kassabericht wird ohne Einwände genehmigt und vom Vorsitzenden bestens verdankt, nachdem auch die Rechnungsrevisoren die Annahme empfohlen haben. Anschliessend erfolgt die übliche Wahl der Rechnungsrevisoren. Da keine Demissionen vorliegen, werden die bisherigen Revisoren in ihrem Amte bestätigt.

### **Jahresbeiträge**

Weder vom Vorstand noch aus dem Kreise der Versammlung wird eine Änderung der Jahresbeiträge vorgeschlagen, so dass dieselben einstimmig als weitergeltend angenommen werden.

Im Anschluss an dieses Traktandum wird vom Präsidenten des Conseil de la Chimie Suisse, Herrn Prof. *Briner*, der folgende Bericht über den Verband der Schweiz. Chemischen Gesellschaft erstattet:

## Rapport du président du Conseil de la Chimie Suisse

Un court exposé est présenté sur l'activité de l'Union Internationale de Chimie à laquelle la Suisse est affiliée. Des indications sont données sur le travail considérable accompli par les Commissions de l'Union, au nombre de 20, qui s'occupent d'unifier les règles de nomenclature, de normaliser l'appareillage, les méthodes d'analyse et de contrôle, et d'établir les symboles et valeurs à utiliser pour les diverses grandeurs physiques et chimiques, etc. Un certain nombre de chimistes suisses — leur nom a été donné dans le Rapport du Conseil de la Chimie Suisse, publié en annexe du No 4 des Helvetica 1948 — ont été appelés à collaborer à ces Commissions.

Le budget de l'Union est alimenté par les cotisations des Pays Membres; la Suisse ayant été promue en première catégorie des Nations, en raison de l'importance de son activité dans le domaine de la Chimie pure et appliquée, sa cotisation a été notablement élevée; mais les trois grandes Sociétés Suisses de Chimie ont bien voulu prendre à leur charge le paiement du supplément à ajouter à l'ancienne cotisation, ce dont le Conseil leur exprime ses sentiments de vive reconnaissance.

Les prochaines réunions internationales de Chimie, organisées par l'Union, auront lieu aux époques suivantes:

XVe Conférence de l'Union, à Amsterdam en 1949, du lundi 5 septembre au dimanche 11 septembre; le programme des séances auxquelles participeront les Délégués de la Suisse et les Membres Suisses des Commissions, a déjà été établi.

XVIe Conférence de l'Union et XIIe Congrès International de Chimie Pure et Appliquée, à New-York et Washington en 1951, du 8 au 14 septembre. Les Commissions d'organisation sont déjà au travail; l'une d'entre elles a établi un projet d'attribution de subventions, de 200 dollars chacune, à 500 Délégués en vue de faciliter la venue de Collègues étrangers aux Etats-Unis. Pour sa part, la Suisse aura droit, du fait qu'elle appartient à la première catégorie, des Pays de l'Union, à 27 de ces subventions, ce qui correspond à une allocation de 20 000 fr. environ.

En 1947, 24 Pays avaient adhéré à l'Union; avec les nouvelles demandes d'adhésion le nombre des Pays faisant partie de l'Union, ne sera pas loin d'atteindre la quarantaine en 1949. Ainsi, de plus en plus, les Nations prennent conscience, dans le domaine de la Chimie également, de la nécessité d'organiser en commun et sur un plan international, leurs diverses activités.

Prof. E. Briner

## Commission Suisse du lait

Parmi les nombreuses questions traitées soit par le Comité, soit par les Commissions, nous avons noté les suivantes en relation plus directe avec l'activité de notre Société:

La 4e éd. du Melkbüchlein a été publiée, ainsi qu'une Instruction pour contrôleur locaux du lait.

L'utilité pratique des machines à traire est en voie d'étude.

La pasteurisation du lait a été contrôlée en rapport avec l'art. 73 O.D.A., de même que l'emploie des machines à chauffer le lait avec la vapeur d'eau. La Commission est d'avis que le consommateur doit être protégé contre les désavantages de ce dernier mode de faire.

Mentionnons aussi l'étude du ravitaillement en lait le dimanche, du payement du lait selon la qualité et de la livraison du lait en bouteilles.

Le congrès national de laiterie prévu pour 1948 a été renvoyé à une date ultérieure, en tous cas après 1949, année du Congrès international de laiterie à Stockholm. Le Comité est, en effet, très absorbé par la participation suisse à ce congrès pour que notre pays y soit avantageusement représenté. Nos délégués aux Commissions spéciales internationales sont désignés pour qu'ils puissent déjà coopérer à leurs travaux préliminaires (protection hygiénique du lait, contrôle du lait, standardisation de méthodes d'analyses, etc.).

P. Balavoine

## Verschiedenes

Aus dem Bericht von Prof. Briner geht hervor, dass der Verband der Schweiz. Chemischen Gesellschaften, zu denen auch unsere zählt, in die erste Kategorie der Union internationale de Chimie vorgerückt ist, womit höhere Beitragsleistungen verbunden sind. Die totale Beitragssumme des Verbandes der Schweiz. Chemischen Gesellschaften an die Union internationale beläuft sich auf 675 Dollars. Davon übernimmt der Bund 75 Dollars, während der Rest auf die drei schweizerischen Gesellschaften fällt. Der Vorstand schlägt vor, 10 %, d. h. 60 Dollars, von unserer Gesellschaft zu übernehmen, um damit die Möglichkeit zu haben, auch aus unserm Kreise einige Delegierte an die Kongresse entsenden zu können. Die Versammlung stimmt dem Vorschlag des Vorstandes bei.

Da die Zeit bereits fortgeschritten ist, wird nach einer kurzen Pause der wissenschaftliche Teil fortgesetzt, beginnend mit dem Kurzreferat von Dr. O. Wyler über «Untersuchungen an Kaffee, Kaffee-Trockenextrakten und Kaffee-Surrogaten». Das Referat ist in erweiterter Form bereits in den «Mitteilungen» publiziert worden.

Anschliessend folgt das Kurzreferat von Dr. H. Hadorn, Basel, über «Nachweis und Bestimmung von Olivenöl». Da auch diese Arbeit in erweiterter Form in den «Mitteilungen» erscheint, können wir auf ihre Wiedergabe an dieser Stelle verzichten.

Das letzte Kurzreferat hält Dr. med. G. Viollier, Basel, betitelt:

## Influence des graisses alimentaires sur le développement de tumeurs chez les rats carencés en choline

Celui qui veut étudier l'influence de la nourriture ou des différents facteurs nutritifs sur la formation des tumeurs, se trouve — étant donné la diversité des types de tumeurs et la multitude des éléments nutritifs — en face de difficultés presque insurmontables. Le temps ne nous permet pas de considérer tous les aspects de ce problème. Une description plus complète des rapports entre la formation de tumeurs et le régime alimentaire se trouve dans une série de travaux publiés par l'Académie des Sciences de New-York<sup>1)</sup> et dans les compte-rendus de Baumann<sup>2)</sup> et Orr<sup>3)</sup>.

Il existe deux méthodes pour étudier l'influence de la nourriture sur le développement des tumeurs, soit qu'on se propose d'en favoriser ou d'en empêcher la *formation*, soit qu'on cherche à agir sur la *croissance* de tumeurs déjà existantes par une alimentation appropriée.

Au cours de ces dernières années, la plupart des recherches se concentrèrent sur la première manière d'aborder le problème. Les résultats les plus récents montrent que l'influence de la nourriture est plus marquée au moment critique où commence la croissance cancéreuse que dans les périodes suivantes, au cours desquelles les tumeurs complètement développées ne font qu'augmenter ou diminuer de volume. En fait, pour plusieurs types de cancer, ce sont la quantité absorbée et la composition du régime qui peuvent provoquer ou inhiber le développement des tumeurs.

Les essais de White sur le rôle de la cystine dans la formation des tumeurs des glandes mammaires chez la souris, constituent un exemple frappant de la relation qui existe entre les facteurs nutritifs et la genèse des tumeurs. On a remarqué que chez presque toutes les souris d'une souche spéciale appelée CH<sub>3</sub>, les tumeurs des glandes mammaires se développaient spontanément, avec l'âge. White<sup>4)</sup> soumit 45 de ces souris à un régime pauvre en cystine et ne trouva, après 22 mois d'essai, aucun signe de cancer; tandis que chez le 97 % des contrôles qui avaient été nourris avec de la cystine, déjà après neuf mois, il pouvait constater la présence de tumeurs.

Kensler et ses collaborateurs<sup>5)6)</sup> fournirent encore un apport intéressant à ce problème. Ces auteurs trouvèrent que, chez des rats nourris au diméthylaminoazobenzène (DMAB), la concentration en vitamine B<sub>2</sub> dans le foie diminuait rapidement, et qu'en administrant de la vitamine B<sub>2</sub> on ne constatait la formation d'aucune tumeur. Par la suite, on fit de nombreux essais avec des diètes synthétiques, dont le contenu en vitamine B<sub>2</sub> était exactement calculé. De toutes ces observations on peut conclure que le nombre des tumeurs provoquées par le

DMAB et ses dérivés est inversément proportionnel à la concentration en vitamine B<sub>2</sub> et que 2 mg. de lactoflavine par kg. de nourriture représentent la dose optimum.

*Copeland, Salmon et Engel*<sup>7)8)</sup> ont observé, il y a quelque temps, un phénomène nouveau, suite d'un manque prolongé de choline. Ces auteurs mirent des rats blancs à un régime pauvre en caséine et riche en graisse, pendant 10 mois et plus. Ce régime contenait aussi peu que possible de méthyle labile. Il ne s'agissait donc pas d'un régime déficitaire total, mais d'un état de carence chronique, puisqu'on donnait de temps en temps aux rats de petites quantités de choline pour les empêcher de périr par suite d'un manque aigu de méthyle labile.

Tous les animaux présentèrent à la fin de l'expérience une «cirrhose» du foie très avancée. Cela signifie en pathologie une destruction des cellules hépatiques plus ou moins prononcée, avec forte augmentation du tissu conjonctif, état pathologique signalé chez les rats après une période de manque de choline par plusieurs auteurs<sup>9)10)11)12)</sup>. Mais en plus, *Copeland et Salmon*<sup>7)</sup> observèrent des tumeurs du foie (hépatomes et adénocarcinomes) chez 20 des 50 rats nourris de cette manière. Trois animaux montrèrent des sarcomes rétropéritonéaux, tandis que chez 19 autres, on constata des néoplasmes primaires des poumons du type adénocarcinome.

Les expériences de *Salmon* et de ses collaborateurs, exécutées sans l'aide de substances cancérogènes, nous offrent l'exemple, jusqu'à maintenant unique, de formation de tumeurs par suite d'une simple mesure de carence diététique et présentent donc un intérêt biochimique et clinique général.

D'après l'interprétation de *Copeland et Salmon*, on peut se figurer le développement de cancers chez les rats carencés en choline de la façon suivante: le manque de choline, c'est-à-dire le manque de méthyle labile produit d'abord une dégénérescence graisseuse du tissu hépatique, qui fait place par la suite à une véritable cirrhose du foie. Si l'on arrive à maintenir cet état de cirrhose, il se produit finalement — peut-être par suite de l'irritation constante — des changements profonds de la structure et du comportement des cellules hépatiques, qui tout d'un coup présentent des signes de dégénérescence maligne.

### *Symptômes provoqués par manque du groupe méthyle labile*

Pour les phénomènes de carence que peut provoquer un manque de méthyle labile on peut distinguer — d'après l'âge des animaux utilisés — deux classes différentes de symptômes.

Chez les *animaux adultes*, un régime alipotrope, c'est-à-dire un régime dans lequel les facteurs lipotropes sont absents, conduit tout d'abord à une accumulation de graisse dans le foie, surtout de glycérides et, en plus faible proportion, d'esters de la cholestérol. Ensuite, il se forme une cirrhose du foie.

La notion de l'effet «lipotrope» fut introduite en 1935 par *Best* et *Ridout*<sup>13)</sup> pour caractériser certaines substances ou facteurs qui ont la faculté d'empêcher une accumulation exagérée de graisse dans le foie. En 1932 *Best* et ses collaborateurs<sup>14)15)16)</sup> avaient réussi à provoquer cet état pathologique chez des rats soumis à un régime riche en graisse et à faire disparaître la dégénérescence graisseuse du foie de ces animaux en leur donnant de la lécithine pure. Peu après, ils purent identifier la choline comme l'élément actif de la lécithine<sup>17)</sup> et démontrer que pour des rats adultes soumis au régime indiqué un mg. de choline par jour était déjà une dose protectrice \*).

Les recherches de *Rose* et de ses collaborateurs<sup>22)</sup> ainsi que celles de *du Vigneaud* et de ses collaborateurs<sup>23)24)</sup> fournirent l'explication du mécanisme de l'effet lipotrope. D'après ces travaux, l'homocystéine (acide aminé dérivé de la méthionine par libération du groupe méthyle fixé au groupe sulphydryle) ne pouvait favoriser la croissance des rats qu'avec une administration simultanée de choline. De cette observation, *du Vigneaud*<sup>25)</sup> conclut que l'organisme animal était capable de transférer le groupe méthyle de la choline sur l'homocystéine en formant de la méthionine. L'existence de ce processus particulier, nommé *trans-méthylation*, a été prouvée par de nombreuses expériences avec des molécules marquées, entre autres au moyen d'isotopes<sup>26)27)28)</sup>. La réaction est réversible. Ainsi, par exemple, en partant de la colamine ou de la méthionine absorbée avec la nourriture, il peut se former, dans l'organisme animal, de la choline. D'autre part, en partant de la choline et de l'homocystéine, l'animal peut synthétiser la méthionine.

La dégénérescence graisseuse du foie observée chez des animaux adultes carencés en choline, est donc l'effet du manque de méthyle labile, car en donnant des groupes méthyle — aussi bien sous forme de choline que de méthionine — l'accumulation de graisse dans le foie disparaît.

Chez les *jeunes rats* carencés en méthyle labile, les symptômes sont différents. Il se produit avant tout des hémorragies dans les reins, puis dans les yeux (hémorragies intraoculaires<sup>29)</sup>), en moindre importance aussi dans les glandes surrénales, dans le myocarde et les poumons — état pour lequel *Griffith* et *Wade*<sup>30)</sup> ont proposé le terme de «dégénérescence hémorragique». Ces rats périssent d'urémie ou bien surmontent la crise aiguë et peuvent rester en vie assez longtemps (plusieurs mois), s'ils reçoivent de temps en temps un peu de

\*) Il est à relever qu'outre la choline et son anhydride (la betaine), la caséine a une action analogue sur la dégénérescence graisseuse du foie. L'emploi de 20 % de caséine, à la place des hydrates de carbone de la nourriture, peut également empêcher l'infiltration graisseuse du tissu hépatique<sup>18)</sup>. Différents acides aminés contenus dans la caséine furent dès lors examinés au point de vue de leur effet lipotrope, toutefois sans succès. Seule la méthionine — comme *Tucker* et *Eckstein*<sup>19)</sup> le constatèrent les premiers en 1938 — put empêcher la dégénérescence graisseuse du foie, et il fut ainsi admis que cet acide aminé était responsable de l'action protectrice de la caséine. Depuis lors l'effet lipotrope de la méthionine fut confirmé à maintes reprises par différents auteurs<sup>20)21)</sup>.

choline \*). Le foie présente après trois semaines de régime pauvre en méthyle labile une infiltration graisseuse considérable.

Après 3 à 5 mois de carence, le foie, d'une couleur jaunâtre, est nettement agrandi. À des distances différentes on observe à la surface de petits nodules qui ont à peu près la grandeur d'une tête d'épingle (fig. 1). Au microscope, le foie présente de fortes altérations; la structure lobulaire n'est plus reconnaissable, les cellules hépatiques montrent des différences de grandeur et de forme considérables: elles sont souvent à double noyau et renferment de nombreuses gouttelettes de graisse de différente grandeur. Sous la capsule (fig. 2) ainsi qu'à l'intérieur de l'organe, on rencontre des formations adénomateuses, qui ont le caractère d'un ensemble de cellules régénérées. Le tissu conjonctif, à proximité de ces adénomes, commence à proliférer (cirrhose au début).

Après 6 à 7 mois de carence en méthyle labile, la configuration noduleuse du foie est déjà plus prononcée (fig. 3). Les nodules en marge dépassent le bord de l'organe, les contours apparaissent dentelés. Le foie est de consistance plus ferme. L'examen microscopique (fig. 4) révèle une cirrhose déjà avancée. La structure lobulaire du foie est détruite, le tissu conjonctif fortement élargi. Les cellules hépatiques qui n'ont pas encore disparu sont agrandies, contenant souvent deux noyaux et plus, présentant beaucoup de mitoses (formes géantes). Certains adénomes montrent une tendance de croissance excentrique avec des signes de compression du tissu voisin. Cependant, jusqu'à aujourd'hui, nous n'avons pas encore rencontré d'indices de malignité cancéreuse dans nos coupes histologiques.

Après 8 mois de régime carencé en choline (fig. 5), le foie est fortement agrandi et grossièrement noduleux. Il est comparable à une grappe de raisin dont les grains seraient formés par des adénomes de différentes grandeurs. Histologiquement (fig. 6), les rats morts après 8 mois de carence présentent une modification cirrhotique du foie prononcée, avec formation de «pseudoacini» ou d'adénomes aussi bien en surface qu'à l'intérieur de l'organe. Les cellules hépatiques prennent des formes géantes caractéristiques avec souvent plusieurs noyaux et de nombreuses mitoses. On constate ici de nouveau des symptômes de dégénérescence à côté d'une forte régénération des cellules hépatiques, et une forte prolifération du tissu conjonctif \*\*).

Pour nos expériences, nous avons utilisé des rats albinos, âgés de 23 jours, des deux sexes, provenant d'une race homogène. Le régime consistait en 40 %

\*) Sans raison connue, une partie des animaux ne montrent aucun signe de dégénérescence hémorragique. Il est à retenir que ces hémorragies n'apparaissent que chez des jeunes rats, âgés de 4 à 6 semaines, et que les symptômes de manque de choline sont accentués par adjonction de cystine à la nourriture basale<sup>31</sup>).

\*\*) Un exposé détaillé de nos observations morphologiques et histologiques nous semble pouvoir se justifier dans le cadre de cette communication, vu que certains auteurs américains<sup>32</sup>) ne sont pas arrivé à provoquer chez le rat carencé en choline l'état pathologique signalé pour la première fois par *Salmon* et ses collaborateurs<sup>7,8)</sup> en 1946.

de sucre, 30 % de farine d'arachides extraite à l'alcool bouillant, 20 % de graisse, 6 % d'une caséine extraite d'après un procédé spécial<sup>33)</sup> et 4 % de mélange de sels. En plus les animaux reçurent par kg. de nourriture 2 mg. d'aneurine, 4 mg. de lactoflavine, 2 mg. d'adermine, 20 mg. de niacine, 10 mg. d'acide pantothenique, 200 mg. d'inosite, 4 mg. de carotide, 50 mg. d' $\alpha$ -tocophérol et 0,125 mg. de calciférol. On donna aux animaux, au début, avec la pipette, 10 mg. de choline 2 à 3 fois par semaine, jusqu'à ce qu'après 4 à 6 semaines ils aient atteint un poids de 100 g. environ. Alors la dose de choline fut réduite successivement jusqu'à 0. Le poids fut contrôlé chaque jour. Dès qu'une perte de poids se faisait remarquer, on donnait une à deux fois 10 ou 20 mg. de choline.

### *Importance des graisses alimentaires pour le développement des tumeurs*

L'influence des graisses alimentaires sur la formation des tumeurs a été observée pour la première fois chez des rats traités aux rayons ultra-violets<sup>34)</sup>. Après 5 à 6 mois de traitement, des tumeurs se développent sur les oreilles de 6 à 16 % de rats recevant une nourriture normale. Mais si on leur donne un régime contenant 30 % d'une graisse fabriquée avec de l'huile de coton hydrogénée (Primex), les tumeurs apparaissent chez 25 à 51 % des animaux traités également aux rayons ultra-violets pendant 5 à 6 mois. Il en est de même pour les tumeurs des glandes mammaires qui se développent spontanément chez une souche spéciale de souris (dba). Un régime riche en graisse accélère la formation<sup>35)</sup>. Ce phénomène ne dépend pourtant pas de la nature des graisses

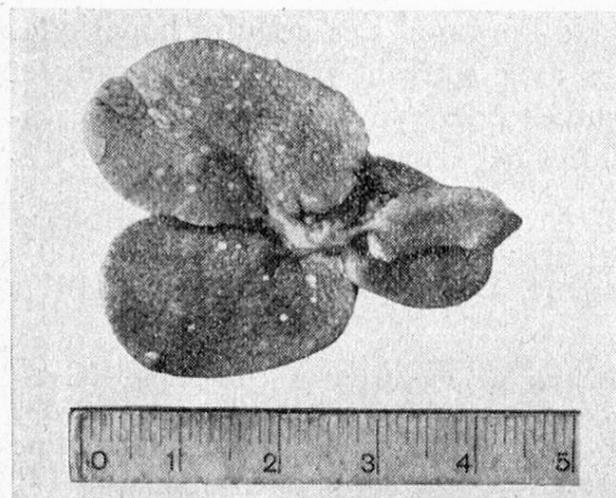


Fig. 1 Foie après 3 mois de carence en choline. Adénomes en surface. (RV 23 No 4)

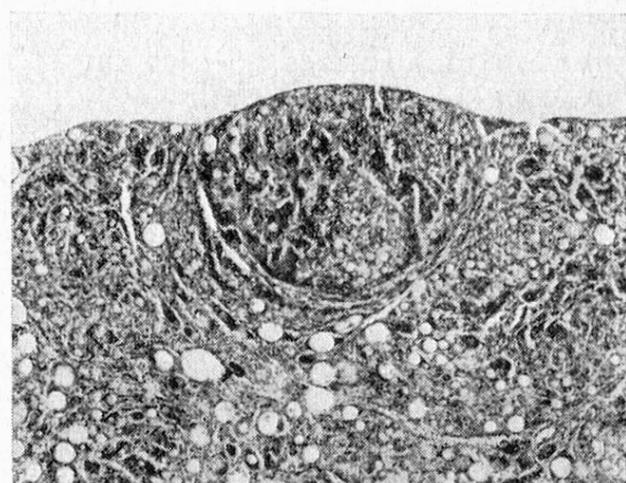


Fig. 2 Le même foie au grossissement 85 $\times$ . Adénome superficiel, augmentation du tissu conjonctif. (RV 23 No 4)

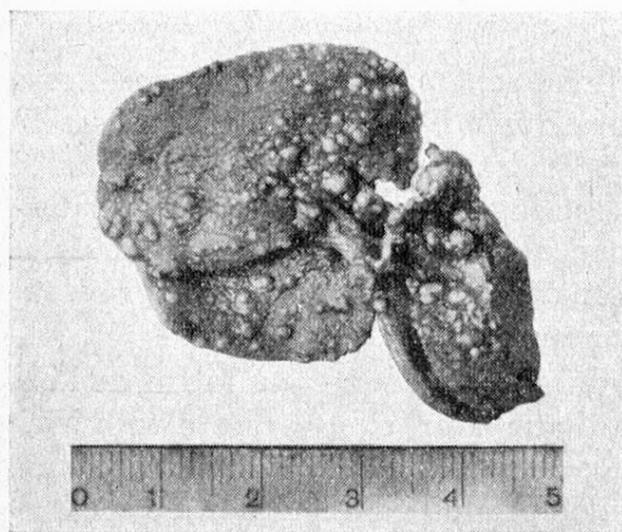


Fig. 3 Foie après 6 mois de carence en choline. Surface noduleuse très prononcée. (RV 52 No 7)

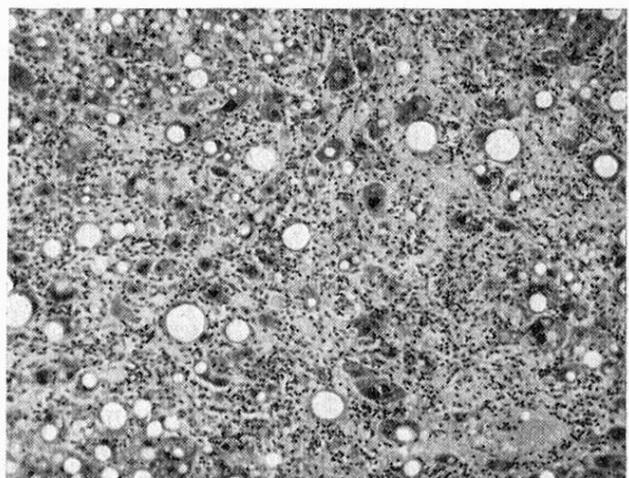


Fig. 4 Le même foie au grossissement 160 $\times$ . Transformation cirrhotique du foie avec cellules géantes à doubles noyaux et noyaux géants. (RV 52 No 7)

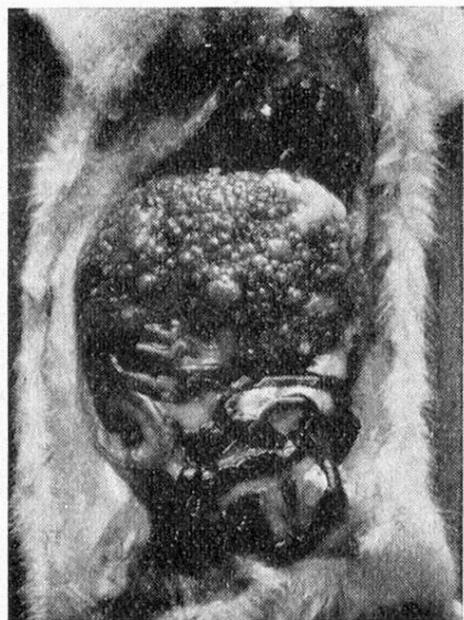


Fig. 5 Foie après 8 mois de carence en choline. Surface grossièrement noduleuse, due à la formation d'adénomes superficiels. (RV 64 No 87)

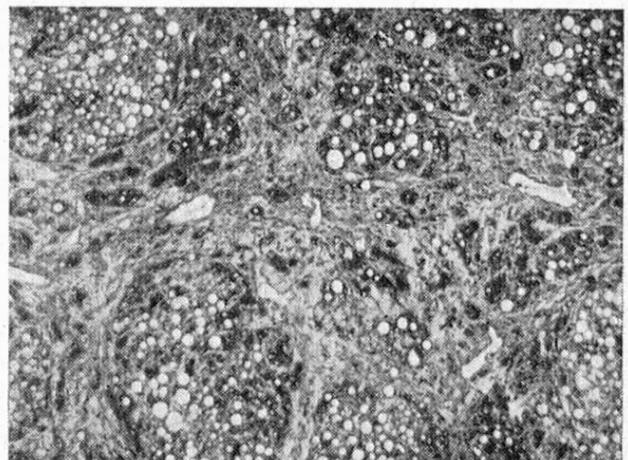


Fig. 6 Le même foie au grossissement 160 $\times$ . Etat cirrhotique très prononcé avec formation de «pseudoacini». Forte prolifération du tissu conjonctif. Cellules géantes à doubles noyaux, nombreuses mitoses. (RV 64 No 87)

absorbées, puisqu'on peut l'observer aussi bien avec de la graisse de porc, de la graisse de beurre, de l'huile de germes de blé, de l'huile de coco, qu'avec d'autres huiles végétales hydrogénées<sup>36)</sup>.

Cependant les tumeurs dues au DMAB ne sont pas seulement sensibles à la quantité de graisse absorbée, mais aussi à la composition de cette dernière. En effet, d'après Baumann et ses collaborateurs<sup>37)</sup>, les tumeurs dues au DMAB se développent particulièrement vite, si l'on fait ingérer aux rats une nourriture contenant 5 % d'huile de maïs. Si l'on donne de l'huile d'olive, les tumeurs se développent moins rapidement. Enfin la formation de ces tumeurs est presque totalement inhibée par l'ingestion de graisse de coco hydrogénée.

Les rats nourris à la graisse de coco hydrogénée présentent à la fin de l'expérience les symptômes typiques de la maladie de Burr, c'est-à-dire d'un déficit d'acide linoléique<sup>38)</sup>. Cette constatation fait penser avant tout, que pour l'action du DMAB, la présence d'acide linoléique, ou de produits d'oxydation de celui-ci, pourrait être d'une certaine importance. Mais cette hypothèse ne semble pas encore suffisamment fondée, si l'on se reporte aux travaux de Baumann et de ses collaborateurs. L'adjonction de 40 mg. d'acide linoléique par jour (dose protectrice pour la maladie de Burr) ne produit par exemple aucun changement dans l'effet du DMAB en présence de graisse de coco hydrogénée \*).

D'après Baumann et ses collaborateurs, l'effet inhibiteur de la graisse de coco hydrogénée sur les tumeurs produites par le DMAB pourrait s'expliquer par l'existence d'une substance inhibitrice se trouvant dans la graisse de coco hydrogénée.

La seconde explication qui pourrait être prise en considération s'appuie sur la différence de stabilité du DMAB dans l'intestin des animaux. D'après György et ses collaborateurs<sup>39)</sup>, les huiles autooxydables seraient capables de détruire le DMAB dans l'intestin. Mais la destruction de ce colorant dans l'intestin par les acides gras ne peut jouer aucun rôle chez les rats recevant de la graisse de coco hydrogénée, puisque les rats n'absorbent pas d'acides gras non saturés.

Par contre les expériences de Frazer<sup>40)</sup> pourraient fournir une autre explication sur ce phénomène. D'après cet auteur, la résorption et la répartition des graisses dans l'organisme animal diffèrent considérablement suivant les conditions expérimentales. Si l'on introduit du rouge écarlate (Scharlachrot) dissous dans l'huile d'olive, dans l'estomac d'un animal, chez lequel les lipases intestinales ont été bloquées pharmacologiquement, on retrouve la graisse colorée surtout dans les grands dépôts de graisse de l'animal. Mais si l'on ajoute à cette huile colorée une forte quantité de lipase, on retrouve la graisse colorée surtout dans le foie. L'acide oléique se comporte de la même manière. En présence de lipase, l'huile de maïs est résorbée comme l'huile d'olive, tandis que la graisse de coco

\*) Si l'on donne, d'autre part, aux rats des mélanges de graisse de coco hydrogénée et d'huile de maïs (dans les proportions 1/4 à 3/4 ou le contraire), l'effet correspond à la concentration de la composante principale du mélange.

hydrogénée, beaucoup moins sensible aux ferments lipolytiques, passe dans les dépôts graisseux. Selon la nature de la graisse absorbée, la voie de transport dans l'organisme est donc différente.

Baumann et ses collaborateurs<sup>41)</sup> admettent par conséquent que le DMAB pourrait parcourir un chemin différent dans le corps de l'animal selon la nature de la graisse absorbée avec la nourriture. Si la moitié du DMAB absorbé par l'animal nourri à la graisse de coco hydrogénée passait directement dans les dépôts, et était détruite avant d'arriver au foie, cela suffirait, d'après Baumann et ses collaborateurs, pour expliquer l'effet inhibiteur de la graisse de coco hydrogénée.

A la suite des résultats de Baumann et de ses collaborateurs, nous nous sommes demandé si la formation des adénomes du foie par un régime pauvre en choline pouvait être influencé par la consommation de graisses de différente teneur en acide linoléique. Dans ce but nous avons soumis trois séries de rats à un régime pauvre en choline. Pour le premier groupe d'animaux, nous avons utilisé du saindoux (qui est aussi contenu dans le régime indiqué par Salmon et ses collaborateurs<sup>7)</sup>), pour le second groupe, de la graisse de coco hydrogénée, et pour la troisième série, une graisse de coco non traitée, contenant 25 % d'huile de tournesol. Dans ces expériences, nous avons fait les constatations suivantes.

Les différentes graisses absorbées n'ont pas d'influence appréciable sur les courbes de poids. Par contre, nous avons l'impression que les animaux nourris à l'huile de tournesol supportaient mieux le manque de choline. Cette conclusion s'impose si l'on observe le nombre des animaux morts pendant l'expérience, du manque de choline. Du 3<sup>e</sup> au 7<sup>e</sup> mois aucun animal nourri à l'huile de tournesol n'est mort, tandis que 5, resp. 8 des rats nourris au saindoux ou à la graisse de coco hydrogénée sont morts pendant la même période \*).

Pour mener à bonne fin une comparaison sur l'état du foie chez les différents groupes, on tua après 9 mois d'expérience 3 animaux de chaque groupe. Comme on le voit dans trois exemples (fig. 7,9 et 11), le foie est grossièrement noduleux. Le phénomène est un peu plus prononcé chez les animaux nourris avec de la graisse de coco hydrogénée ou avec de l'huile de tournesol que chez les rats nourris avec du saindoux. Nous avons même constaté chez un animal de contrôle nourri à l'huile de tournesol, et qui recevait 20 mg. de choline par jour, un petit adénome typique du foie. Chez les rats nourris à la graisse de coco hydrogénée, ou graisse de coco contenant de l'huile de tournesol, les nodules sont jaunâtres. Chez les rats nourris au saindoux, les nodules sont plutôt brunâtres.

Histologiquement la structure de ces formations adénomateuses est à peu près *identique* pour les trois groupes de rats. Le foie n'est plus qu'une seule grappe d'adénomes. Chez les rats tués pour analyse ou pour examen microscopique, le tissu conjonctif prolifère dans des limites relativement étroites. On n'y

\*) Signalons que nous n'avons observé chez aucun de nos rats nourris à la graisse de coco hydrogénée les symptômes typiques du manque d'acide linoléique<sup>38)</sup>.

rencontre qu'une infiltration cellulaire modérée (fig. 8). Par contre, l'état de cirrhose semble plus avancé chez les rats qui sont morts, n'ayant pas pu supporter le régime (fig. 6).

Dans les trois groupes de rats, l'infiltration graisseuse à l'intérieur des adénomes est très distincte. Au microscope, on aperçoit facilement des gouttes de graisse, même à faible grossissement (fig. 10 et 12). Les capillaires qui traversent les espaces entre les adénomes sont remplis de sang. Dans les cordons séparant les formations adénomateuses, le tissu conjonctif est — comme nous pouvons le constater dans la fig. 8 — nettement augmenté. On y rencontre régulièrement des cellules hépatiques renfermant un, souvent deux noyaux géants, ainsi qu'une infiltration cellulaire moyenne.

### *Etude biochimique du foie des rats carencés en choline*

Nous avons examiné l'activité de deux enzymes typiques du foie, l'arginase et l'histidase. Nous avons aussi analysé les acides gras contenus dans la graisse du foie. Les résultats de ces analyses sont résumés dans les tableaux 1 et 2.

Du point de vue biochimique, il est intéressant de constater que, malgré l'altération morphologique de leur foie, les animaux carencés en méthyle labile présentent une activité enzymatique peu différente de celle des contrôles recevant

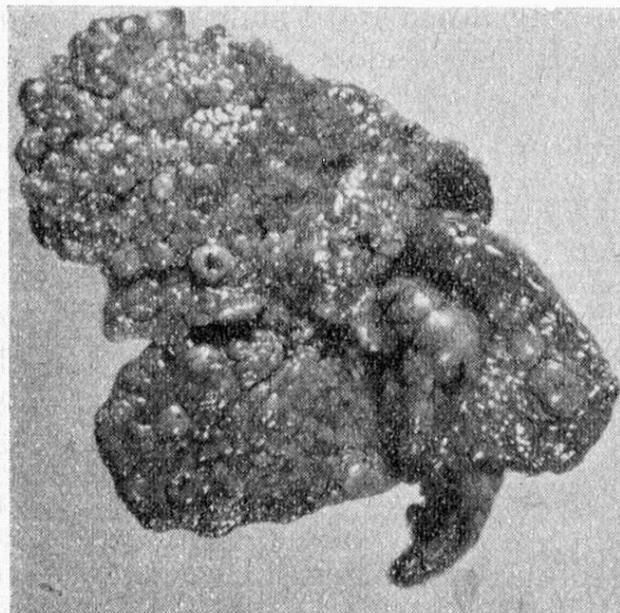


Fig. 7 Rat nourri à l'huile de tournesol. Après 9 mois de carence en choline, le foie est entièrement transformé. Les adénomes atteignent la grandeur de petits poids. (RV 119 No 75)

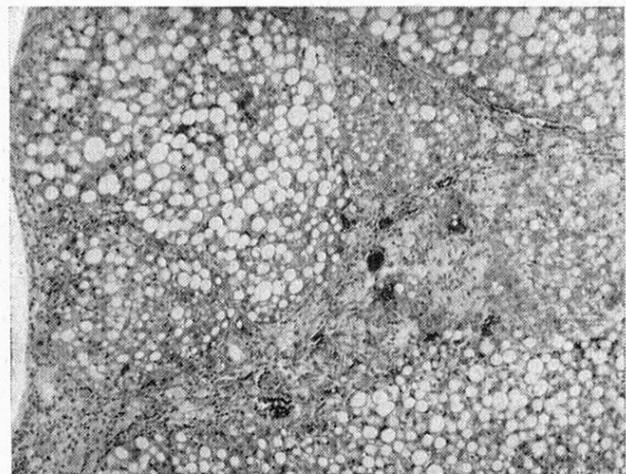


Fig. 8 Le même foie au grossissement 110×. Formation de «pseudoacini». Le tissu conjonctif est nettement élargi et infiltré. (RV 119 No 75)

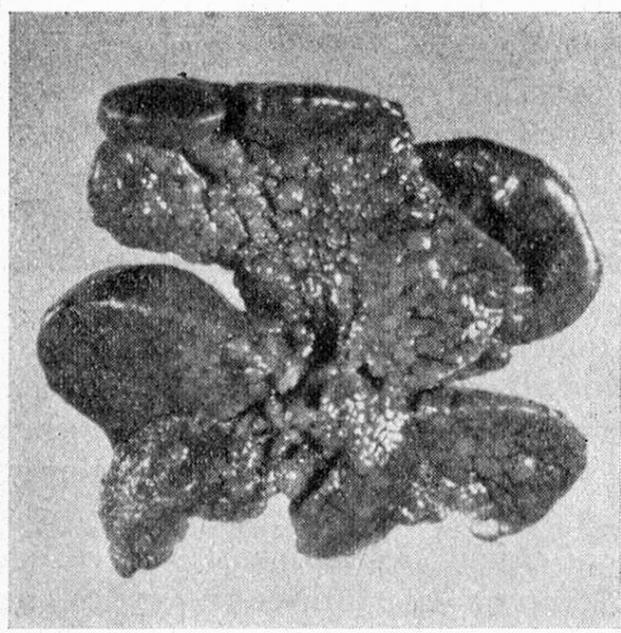


Fig. 9 Rat nourri à la graisse de porc. Surface du foie grossièrement noduleuse, après 9 mois de carence en choline. (RV 123 No 38)

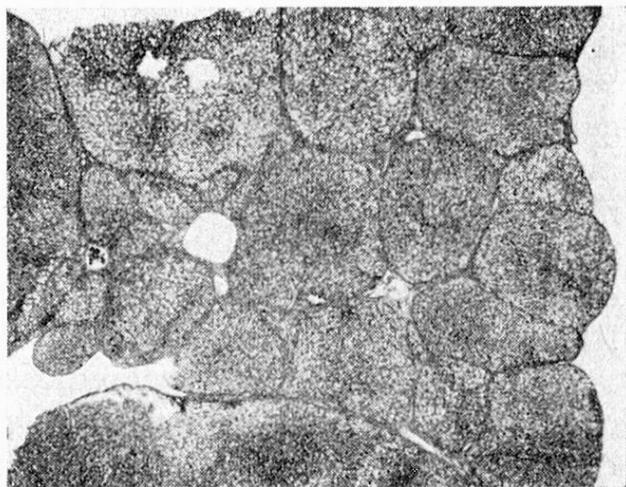


Fig. 10 Le même foie au grossissement 28 $\times$ . Importantes formations adénomateuses avec infiltration graisseuse très prononcée. Tissu conjonctif lisse. (RV 123 No 38)

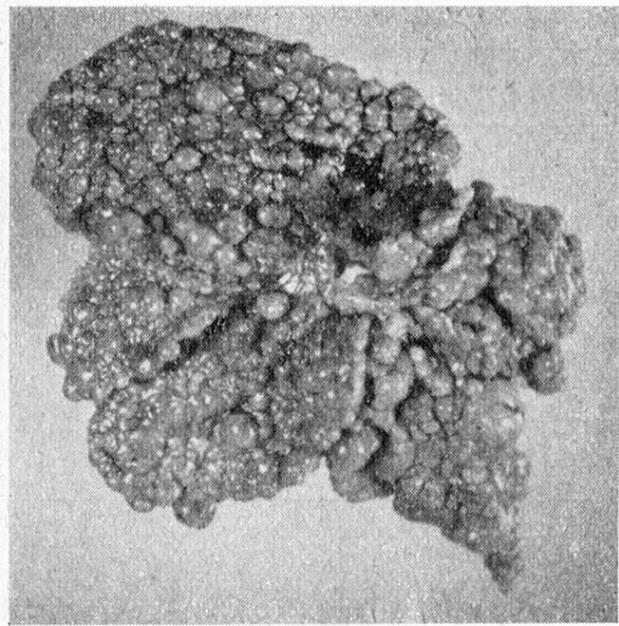


Fig. 11 Rat nourri à la graisse de coco hydrogénée. Configuration en grappe de raisin, après 9 mois de carence en choline. (RV 116 No 49)

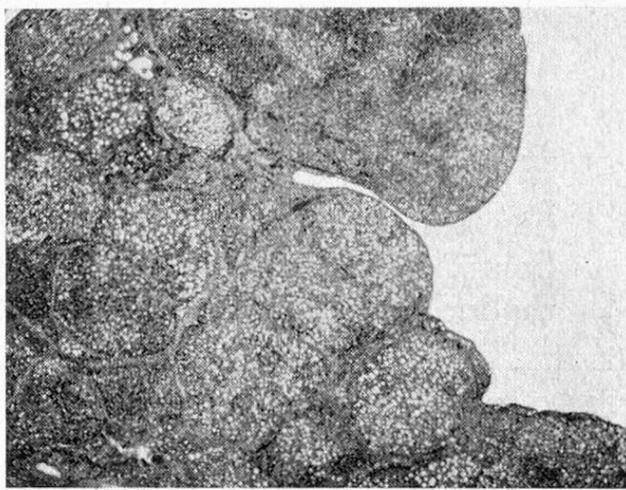


Fig. 12 Le même foie au grossissement 28 $\times$ . Entre les formations adénomateuses le tissu conjonctif est légèrement élargi. (RV 116 No 49)

20 mg. de choline par jour: l'activité de l'arginase semble être faiblement augmentée ou presque identique, celle de l'histidase par contre paraît légèrement diminuée (tableau 1). Ces résultats se distinguent nettement de ceux qu'ont obtenu *Masayama* et ses collaborateurs<sup>42)</sup> qui trouvèrent dans les cas d'hépatomes provoqués par le DMAB une réduction de l'activité de l'arginase et de l'histidase allant jusqu'à 85, resp. 95 %.

L'analyse des acides gras de la graisse extraite du foie, d'après une méthode qui sera ultérieurement publiée<sup>43)</sup>, nous a permis d'établir une relation entre l'indice d'iode de ces acides et l'apport de choline. Chez les animaux carencés, nous avons constaté une augmentation de l'indice d'iode d'environ 30 unités par rapport à l'indice d'iode des contrôles recevant 20 mg. de choline par jour. Cette différence subsiste dans les trois groupes de rats, bien que les chiffres trouvés chez les animaux nourris à la graisse de coco hydrogénée soient un peu moins élevés.

Cette augmentation de l'indice d'iode prouve que le taux des acides gras non saturés est plus élevé dans la graisse hépatique des animaux carencés en choline. Il semble donc que le foie adénomateux ne peut utiliser ou oxyder que partiellement les acides gras non saturés. Ceci pourrait concorder avec les résultats de *Rusch*<sup>44)</sup>, qui affirme que les hydrocarbures cancérogènes empêcheraient l'oxydation des phospholipides et de certains acides gras non saturés. Peut-être cette observation pourrait-elle avoir une certaine importance dans l'explication de la genèse des tumeurs.

Tableau 1

Activité de l'arginase et de l'histidase dans le foie de rats carencés en choline

	Arginase *)			Histidase **)		
	Nombre des rats examinés	mg.de NH <sub>3</sub> dégagés par mg.de protéine	Erreur quadratique	Nombre des rats examinés	γ de NH <sub>3</sub> dégagés par mg.de protéine	Erreur quadratique
Rats carencés en choline	17	5,75	± 0,60	17	22,3	± 2,1
Contrôles (20 mg. de choline par jour)	9	4,43	± 0,88	9	29,8	± 3,9

\*) Temps d'incubation à 38°: 1 heure

\*\*) Temps d'incubation à 38°: 3 heures

Erreur quadratique calculée (comme dans le tableau No 2) d'après la formule:  $\varepsilon = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n(n-1)}}$

Tableau 2  
Indice d'iode des acides gras du foie de rats carencés en choline

	Sexe	Durée de l'expérience (semaines)	Indice d'iode des acides gras du foie	Sexe	Durée de l'expérience (semaines)	Indice d'iode des acides gras du foie	Sexe	Durée de l'expérience (semaines)	Indice d'iode des acides gras du foie
	Graisse de porc			Graisse de coco contenant 25% d'huile de tournesol			Graisse de coco hydrogénée		
Rats carencés en choline	♂	22	139,9	♂	5	121,0	♂	30	151,8
	♀	22	147,9	♂	5	163,6	♀	39	149,5
	♂	22	164,1	♂	32	156,6	♀	50	151,3
	♂	22	189,3	♂	39	164,9	♂	50	162,9
	♀	27	158,0	♀	39	192,5	♀	55	133,5
	♀	41	153,3	♀	39	153,0			
	♀	41	142,4	♂	41	159,3			
	♂	52	167,9	♀	41	162,5			
	♀	55	149,3	♀	42	139,2			
				♀	42	144,1			
Moyenne			<u>156,9</u>	Moyenne			<u>155,7</u>	Moyenne	
$\varepsilon = \pm 5,1$				$\varepsilon = \pm 5,9$				$\varepsilon = \pm 4,8$	
Contrôles (20 mg. de choline par jour)	♀	22	120,4	♂	5	123,9	♂	50	133,4
	♀	35	120,8	♂	39	143,8	♀	55	104,6
	♀	46	119,1	♀	47	131,9	♀	55	96,1
	♀	55	122,1	♀	48	136,0			
	♂	58	131,8						
	♂	58	131,2						
	Moyenne			<u>124,2</u>			Moyenne		<u>133,9</u>
$\varepsilon = \pm 2,3$				$\varepsilon = \pm 3,2$			Moyenne		<u>111,4</u>
									$\varepsilon = \pm 11,1$

### Résumé

1<sup>o</sup> Il ressort de cette communication que la nature des graisses alimentaires n'a qu'une influence peu prononcée sur la formation d'adénomes du foie chez les rats carencés en choline. A cet égard, les adénomes du foie produits par manque de choline sont différents des hépatomes dus au diméthylaminoazobenzène (DMAB). Il est important de savoir que les rats supportent mieux le manque de choline quand on leur administre 5 % d'huile de tournesol.

2<sup>o</sup> Une autre différence réside dans l'activité enzymatique du foie. Tandis que l'activité de l'arginase et de l'histidase est fortement réduite dans les tumeurs dues au DMAB (*Masayama* et ses collaborateurs), elle ne l'est presque pas dans les adénomes provoqués par le manque de choline.

3<sup>o</sup> En analysant les acides gras de la graisse hépatique des rats carencés en choline, on observe enfin un indice d'iode plus élevé que dans la graisse du foie des animaux recevant 20 mg. de choline par jour.

Ce travail a été exécuté avec une subvention de la Fondation Emile Barell pour l'avancement des sciences médicales.

Les graisses employées ont été préparées et mises à notre disposition par la S. A. Astra, Fabrique de graisses et huiles à Steffisbourg.

### Bibliographie:

- 1) *C. J. King* et 15 autres, Ann. N. Y. Acad. Sci. **49**, 1 (1947).
- 2) *C. A. Baumann*, J. Amer. Diet. Ass. **24**, 573 (1948).
- 3) *J. W. Orr*, Brit. Med. Bull. **4**, 385 (1947).
- 4) *J. White* et *H. B. Andervont*, J. Nat. Cancer. Inst. **3**, 449 (1943).
- 5) *C. J. Kensler*, *K. Sugiura* et *C. P. Rhoads*, Science **91**, 623 (1941).
- 6) *C. J. Kensler*, *K. Sugiura*, *N. F. Young*, *C. R. Halter* et *C. P. Rhoads*, Science **93**, 308 (1941).
- 7) *D. H. Copeland* et *W. D. Salmon*, Amer. J. Pathol. **22**, 1059 (1946).
- 8) *R. W. Engel*, *D. H. Copeland* et *W. D. Salmon*, Ann. N. Y. Acad. Sci. **49**, 49 (1947).
- 9) *H. Blumberg* et *E. U. McCollum*, Science **93**, 598 (1941).
- 10) *R. D. Lillie*, *L. L. Ashburn*, *W. H. Sebrell*, *F. S. Daft* et *J. U. Lowry*, Publ. Health Rep. **57**, 502 (1942).
- 11) *F. S. Daft*, *W. H. Sebrell* et *R. D. Lillie*, Proc. Soc. Exptl. Med. **48**, 228 (1941).
- 12) *R. W. Engel*, Federation Proc. **2**, 62 (1943).
- 13) *C. H. Best* et *J. H. Ridout*, J. Physiol. **84**, 7 P (1935).
- 14) *F. G. Banting* et *C. H. Best*, J. Lab. Clin. Med. **7**, 251 (1922).
- 15) *F. N. Allan*, *D. J. Bowie*, *J. J. R. McLeod* et *W. Robinson*, Brit. J. Exptl. Path. **5**, 75 (1924).
- 16) *C. H. Best*, *J. M. Hershey* et *M. E. Huntsman*, J. Physiol. **75**, 56 (1932).
- 17) *C. H. Best* et *M. E. Huntsman*, J. Physiol. **75**, 405 (1932).
- 18) *H. J. Channon* et *H. Wilkinson*, Biochem. J. **29**, 350 (1935).
- 19) *H. F. Tucker* et *H. C. Eckstein*, J. Biol. Chem. **121**, 479 (1937).
- 20) *H. J. Channon*, *M. C. Manifold* et *A. P. Platt*, Biochem. J. **32**, 969 (1938).
- 21) *C. H. Best* et *J. H. Ridout*, J. Physiol. **97**, 489 (1940).
- 22) *M. Womack*, *K. S. Kemmerer* et *W. C. Rose*, J. Biol. Chem. **121**, 403 (1937).
- 23) *L. W. Butz* et *V. du Vigneaud*, J. Biol. Chem. **99**, 135 (1932).
- 24) *V. du Vigneaud*, *J. P. Chandler*, *A. W. Moyer* et *D. M. Keppel*, J. Biol. Chem. **128**, cviii (1939).
- 25) *V. du Vigneaud*, *J. P. Chandler*, *A. W. Moyer* et *D. M. Keppel*, J. Biol. Chem. **131**, 57 (1939).

- <sup>26)</sup> *U. du Vigneaud, J. P. Chandler, M. Cohn et G. B. Brown*, J. Biol. Chem. **134**, 787 (1940).
- <sup>27)</sup> *De W. Stetten*, J. Biol. Chem. **138**, 437 (1941).
- <sup>28)</sup> *S. Simmonds, M. Cohn, J. P. Chandler et U. du Vigneaud*, J. Biol. Chem. **149**, 519 (1943).
- <sup>29)</sup> *R. Brückner et G. Viollier*, Helv. physiol. Acta **6**, C3 (1948).
- <sup>30)</sup> *W. H. Griffith et N. J. Wade*, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **41**, 188 (1939) et J. Biol. Chem. **131**, 567 (1939).
- <sup>31)</sup> *W. H. Griffith et N. J. Wade*, J. Biol. Chem. **132**, 627 et 639 (1940).
- <sup>32)</sup> *C. A. Baumann*, Communication personnelle.
- <sup>33)</sup> *H. Staub, G. Viollier et A. Werthemann*, Experientia **4**, 233 (1948).
- <sup>34)</sup> *C. A. Baumann, H. P. Jacobi et H. P. Rusch*, Sixth Pacific Science Congress **6**, 681 (1939).
- <sup>35)</sup> *A. Tannenbaum*, Cancer Research **2**, 468 (1942).
- <sup>36)</sup> *P. S. Lavik et C. A. Baumann*, Cancer Research **1**, 181 (1941).
- <sup>37)</sup> *J. A. Miller, B. E. Kline, H. P. Rusch et C. A. Baumann*, Cancer Research **4**, 756 (1944).
- <sup>38)</sup> *G. O. Burr et M. M. Burr*, J. Biol. Chem. **86**, 587 (1930).
- <sup>39)</sup> *P. György, R. Tomarelli, R. P. Ostergard et J. P. Brown*, J. Exptl. Med. **76**, 413 (1942).
- <sup>40)</sup> *A. C. Frazer*, J. Physiol. **102**, 306 (1943).
- <sup>41)</sup> *H. P. Rusch, C. A. Baumann, J. A. Miller et B. E. Kline*, A.A.A.S., Research Conference on Cancer, pag. 267 (1945).
- <sup>42)</sup> *T. Masayama, H. Iki, T. Yokoyama et M. Hasimoto*, cité d'après *J. P. Greenstein*, Adv. Enzymology, **3**, 315 (1943).
- <sup>43)</sup> *G. Viollier*, Helv. Physiol. Acta, sous presse.
- <sup>44)</sup> *H. P. Rusch*, A.A.A.S., Research Conference on Cancer, pag. 114 (1945).

Erst gegen 18.50 Uhr kann der erste Teil der Tagung abgeschlossen werden, um eine gute Stunde später dem geselligen Zusammensein Platz zu machen. Recht zahlreich treffen sich Gäste und Kollegen am offiziellen Bankett im Hotel de la Planta. Dr. *R. Viollier* benützt diese Gelegenheit, noch weitere Gäste, vor allem auch die Vertreter der Gemeinde und einige Vertreter der Industrien zu begrüßen, die unsere Jahresversammlung in namhafter Weise subventioniert haben.

Regierungsrat *Gard*, Vizepräsident des Regierungsrates, überbringt den Willkomm und die Grüsse der Regierung. Im weitern folgen launige und geistreiche Tischreden der Herren Prof. *Briner*, Prof. *Kuhn* und als Vertreter der ausländischen Gäste Herr *Durier*.

Ganz besonders glücklich war der Beschluss unseres Organisators Dr. *Venetz*, die «Chanson valaisanne» für diesen Abend zu verpflichten. Die ausgezeichneten Gesangsvorträge fanden bis zu später Stunde die volle Begeisterung aller Anwesenden.

Der Aktuar: *E. Jaag*

## ***Deuxième séance***

samedi, 11 septembre 1948, 8.00 heures  
dans la salle du Grand Conseil

Prof. Dr. E. Cherbuliez:

### **Sur la recherche toxicologique du mercure**

Aux anciens emplois du mercure, notamment à l'état élémentaire dans des instruments de physique les plus variés et aux applications classiques de diverses combinaisons et de l'élément lui-même, en thérapie, s'ajoutent de nouvelles formes d'utilisation qui compensent et au delà la disparition de certaines applications industrielles (étamage des glaces, «scrétage» des feutres); nous pensons notamment aux divers dérivés organomercuriques nouveaux dont certains sont abondamment utilisés aussi comme anticryptogamiques, et finalement aux alliages dentaires. Le problème de la recherche qualitative de cet élément, qui est toxique à l'état élémentaire aussi bien que dans toutes ses combinaisons, présente donc un intérêt indiscutable, tout comme son dosage.

Déjà à l'état élémentaire, le mercure offre certains dangers à sa manipulation, en raison de sa volatilité nullement négligeable. A la température ordinaire, un m<sup>3</sup> d'air saturé de vapeur de mercure contient 15,000 γ/m<sup>3</sup>; dans les conditions normales de travail où par suite de la ventilation la saturation n'est jamais atteinte, on constate des teneurs appréciables en mercure dans l'air au-dessus de cuves ouvertes (à 5 cm. de distance, 1860 γ/m<sup>3</sup>; à 30 cm., 1260 γ/m<sup>3</sup>, à 100 cm., 850 γ/m<sup>3</sup>), qui peuvent parfaitement provoquer des intoxycations chroniques. Même une substance telle que le chlorure mercurique possède une volatilité perceptible: 1 m<sup>3</sup> d'air saturé de Cl<sub>2</sub>Hg en contient 75 γ.

Chez l'animal supérieur et chez l'homme, le mercure s'accumule dans certains organes, tout en se retrouvant un peu partout. Dans un cas d'intoxycation aiguë, le rein contenait 8 mgr./100 gr., le foie 3 mgr./100 gr., la rate 1 mgr./100 gr., le cœur 0,3 mgr./100 gr., le cerveau 0,2 mgr./100 gr. et le sang 0,3 mgr./100 gr. Le liquide céphalo-rachidien, quoique constituant un milieu séparé du reste de l'organisme, en contient 10—20 γ/100 cm<sup>3</sup> et dans des cas d'hydargyrisme chronique il en contient jusqu'à 1600 γ/100 cm<sup>3</sup>. Cette rétention sélective dans le rein qui ressort de ces chiffres traduit le fait que l'appareil rénal est particulièrement sensible à l'intoxycation mercurielle, ce qui précisément entraîne des suites graves à cause de l'affaiblissement, voire la suppression de la fonction détoxicante de cet organe qui en résulte.

Quant à l'élimination, elle se fait avant tout par le rein — sauf lésion grave de ce dernier —, par les selles ( $\frac{1}{10}$  environ du mercure absorbé), par la salive (élimination constante, quoique faible: par exemple 500 γ/litre après injection

de salicylate de mercure et de pilocarpine), par la sueur (élimination faible en concentration, mais importante par l'étendue de la surface intéressée et par sa fonction de remplacement d'une élimination rénale déficiente) et par le lait.

Dans la recherche du mercure dans des organes, il faut se rappeler les facultés réactionnelles du mercure, et notamment sa capacité d'entrer en combinaison directe avec le carbone (combinaisons organomercuriques) et avec l'azote aminé. Cela explique que — sauf le cas de l'urine qui contient généralement le mercure à l'état ionisable — une dégradation oxydative complète est nécessaire. Je n'insisterai pas sur les détails de cette opération. Je rappellerai seulement que la volatilité du chlorure mercurique avec les vapeurs est telle que la dégradation au chlore naissant ( $\text{ClO}_3\text{K} + \text{ClH}$ ) doit se faire de préférence dans un ballon à reflux. La dégradation à l'acide nitrique concentré et au peroxyde d'hydrogène est excellente, mais un peu fastidieuse à cause de la surveillance qu'elle nécessite. Pour l'urine, l'opération la plus simple consiste en un traitement direct au chlore gazeux. Les matières grasses sont toujours très désagréables à désagréger. Ici, on utilise avec avantage la combustion dans une lampe alimentée avec la matière grasse en question, dissoute éventuellement dans un peu de toluène; les vapeurs qui se dégagent sont aspirées dans un entonnoir relié à un tube en U plongeant dans de la neige carbonique; on retrouve la totalité du mercure dans les produits condensés dans ce tube où un simple traitement à l'acide nitrique permet de les recueillir sous forme de nitrate mercurique.

La précipitation à l'hydrogène sulfuré est facilitée, lorsqu'il s'agit de petites quantités, par l'emploi de précipités entraînants, par exemple le sulfate de baryum, ou le sulfure de cuivre (par addition de 5 à 20 mgr. de cet élément sous forme de sulfate). Pour purifier et concentrer le sulfure de mercure, on peut répéter la précipitation après redissolution par le chlore naissant ou par l'eau de chlore. Un procédé fort élégant consiste à précipiter en dernier lieu le mercure comme sulfure en présence de ions  $\text{Cd}^{++}$ ; le précipité isolé par centrifugation est humecté par quelques gouttes de brome; après 5 minutes de contact on élimine l'excès d'halogène par le vide et extrait le bromure mercurique formé par 3 lavages avec de l'éther dont l'évaporation fournit un résidu constitué pratiquement par du bromure mercurique pur qui se prête aux réactions d'identification et aux dosages.

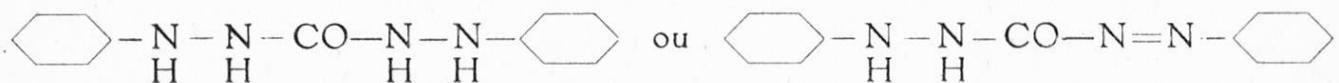
Parmi les réactions analytiques, nous n'en rappellerons que quelques-unes qui permettent en partie aussi une appréciation quantitative assez précise.

1. «Nessler» inversé: il s'agit de la formation du complexe dimercuri-aminé bien connu dont l'iodure donne la coloration dite de *Nessler*.  $0,5 \text{ cm}^3$  de solution mercurielle sont additonnés de  $0,5 \text{ cm}^3$  IK à 5 %, de  $0,2 \text{ cm}^3$  NaOH à 5 %, de  $0,5 \text{ cm}^3$  NH<sub>3</sub> à 3 %. La coloration jaune, sensible à quelques γ Hg dans la prise, se prête à une évaluation colorimétrique.

2. Précipitation de iodomercurates d'alcaloïdes, par exemple comme suit:  $0,5 \text{ cm}^3$  de la solution à examiner sont additonnés de  $0,5 \text{ cm}^3$  de IK à 0,5 %, de

5 gouttes d'acide acétique dil. et de 5 gouttes de chlorhydrate de strychnine à 1,5 %. Limite de sensibilité 2 γ; dosage néphélométrique possible jusqu'à 50 γ.

3. Réaction colorée à la diphenylcarbazone<sup>1)</sup> (ou diphenylcarbazide<sup>2)</sup>):



Sensibilité 0,04 γ!<sup>2)</sup>

4. Précipitation de sulfure de mercure en présence de gélatine comme colloïde protecteur, et néphélométrie de la suspension stable obtenue ainsi.

5. Une réaction qualitative, mais très démonstrative, dite de *Merget*, repose sur l'action de vapeurs mercurielles sur le nitrate d'argent ammoniacal: dans la solution à examiner, on plonge une lamelle de cuivre sur laquelle se dépose après quelques heures de contact la totalité du mercure sous forme d'amalgame. Séchée à l'alcool et l'éther, la lamelle enveloppée dans du papier de soie (papier à cigarettes) est incluse dans le pli d'une feuille de papier ordinaire, légèrement badigeonnée sur sa face interne avec une solution de 8 gr. de nitrate d'argent dans 15 cm<sup>3</sup> d'eau, additonnée d'ammoniaque en quantité suffisante pour la redissolution du précipité; avant l'emploi, l'excès de solution est essoré avec du papier filtre. Le tout, entouré d'un papier noir, est placé dans les feuillets d'un livre assez lourd. Après quelques heures (30 minutes au minimum) on sépare la feuille de papier traitée au nitrate d'argent et on la lave avec une solution de thiosulfate à 10 % légèrement ammoniacale. Ce traitement enlève l'oxyde d'argent et ne laisse persister que l'amalgame noir d'argent qui s'est formé sous l'influence des vapeurs de mercure. On obtient ainsi une tache noire sous forme de décalque des parties mercuriées de la lamelle de cuivre.

Le procédé le plus élégant et le plus précis consiste à isoler le mercure à l'état élémentaire et à en déterminer la quantité par la mesure micrométrique du diamètre de la gouttelette de mercure obtenue. On doit aux beaux travaux de *A. Stock*<sup>3)</sup> une mise au point parfaite de toutes les opérations, de la désagrégation oxydative à la précipitation répétée comme sulfure, l'isolement du mercure par électrolyse sur un mince fil de cuivre et la distillation du métal dans un tube capillaire, dans lequel on termine par la mesure exacte du diamètre de la gouttelette au microscope. Ce procédé est extrêmement sensible, puisque des essais à blanc montrent que la quantité minimum décelable encore avec précision est de l'ordre du vingtième de γ. L'appareillage une fois monté, cette méthode est d'une exécution suffisamment rapide pour se prêter à des contrôles systématiques, par exemple pour surveiller l'état de santé d'ouvriers manipulant du mercure et pour déceler toute menace d'hydrargyrisme.

Au cours de ses nombreux travaux, *Stock*<sup>3)</sup> a fait des observations fort curieuses sur le comportement du sublimé en solution aqueuse très diluée, qui méritent une mention. Il a constaté notamment qu'au contact avec du platine,

il s'y déposait d'une solution neutre de sublimé une couche monomoléculaire résistant au lavage à l'eau. Cette couche représente environ  $0,25 \gamma$  de  $\text{Cl}_2\text{Hg}/\text{cm}^3$ , soit  $0,19 \gamma$  de mercure. Cette pellicule peut de nouveau être détachée par des acides aqueux dilués. Lorsqu'on travaille avec de très petites quantités de mercure, c'est là un facteur dont il faut tenir compte. *Stock* a constaté encore qu'un phénomène analogue se produisait avec des solutions aqueuses neutres de sublimé, en ce sens qu'il se forme à l'interface air/eau également une accumulation de mercure (sous forme de sublimé ou d'un sel basique ?), représentant de nouveau une couche monomoléculaire. Ce phénomène, mis en évidence par l'analyse quantitative précisément à l'aide du procédé développé par *Stock*, explique un autre fait également très curieux: la volatilité relativement d'autant plus grande du sublimé, en solution aqueuse, que sa concentration dans la solution est plus faible. C'est ainsi qu'une solution de sublimé représentant  $100 \gamma$  de mercure dans  $100 \text{ cm}^3$  d'eau, concentrée dans une capsule de platine d'un diamètre de  $9,5 \text{ cm}$ ., a perdu par évaporation au bain-marie à  $10 \text{ cm}^3$ ,  $38,7 \gamma$  de mercure; une quantité dix fois plus élevée de sublimé (soit  $1000 \gamma$  de mercure) également dans  $100 \text{ cm}^3$  d'eau, concentrée dans la même capsule par évaporation à l'air à la température ordinaire, a subi en 48 heures une perte de  $244 \gamma$  de mercure pendant l'évaporation de  $12,5 \text{ gr.}$  d'eau. Ces phénomènes de surface sont intéressants à enregistrer, notamment lorsqu'on considère les opérations qui conduisent aux «dilutions» utilisées en homéopathie. Ils montrent qu'il est imprudent, pour ne pas dire tout à fait aléatoire, de vouloir calculer la concentration effective d'un produit actif dans une solution obtenue par dilutions successives, uniquement en raison du rapport algébrique de dilution; dans chaque opération de ce genre, il faudrait préciser si des phénomènes de variations de concentration, soit positives, soit négatives, interviennent ou non sur les parois des récipients ou à la surface des liquides; on voit d'autre part que le résultat des opérations de dilution peut être très différent selon qu'on procède par prélèvements de prises du liquide transvasées dans des vases neufs, ou par dilutions progressives du résidu qu'on garde en écartant chaque fois une certaine quantité de liquide.

Pour terminer, je voudrais dire encore quelques mots d'un procédé fort ingénieux de recherche qualitative et d'appréciation quantitative, basé sur l'action bien connue du mercure sur l'aluminium. On sait qu'au contact du mercure, l'aluminium subit une amalgamation superficielle qui rompt la continuité de la couche compacte d'oxyde d'aluminium dont la présence à la surface du métal explique sa résistance paradoxale à l'action de l'eau et de l'air. De très faibles quantités de mercure appliquées sur une surface d'aluminium se trahissent par le fait qu'aux endroits où il y a eu amalgamation, il se forme des efflorescences d'oxyde d'aluminium. *Schmidt* et *Tornow*<sup>4)</sup> ont décrit il y a déjà quelque temps un procédé d'électrolyse très simple avec une anode en charbon et une cathode en lame d'aluminium; au bout d'une demi-heure d'électrolyse en milieu neutre, en présence de chlorure de sodium sous 4 volts, on obtient un dépôt à

peu près quantitatif du mercure; des quantités de l'ordre de 1 γ sont encore décelables, lorsqu'on travaille avec de petites cathodes, par la corrosion qui s'y marque. Cette observation semble avoir passé à peu près inaperçue. Ce procédé très simple se prête fort bien non seulement à la recherche qualitative du mercure dans l'urine, mais encore à une appréciation approximative de sa quantité<sup>5</sup>). En effet, dès qu'il s'agit de très petites quantités de mercure, la corrosion qui résulte de sa présence est limitée dans son étendue. Les choses se passent comme si l'oxyde d'aluminium qui se forme aux endroits amalgamés entraînait avec lui peu à peu le mercure, si bien que lorsque ce dernier est présent en très faible quantité, l'attaque observée est limitée et fonction, dans son intensité, de la quantité déposée.

La photographie montre quelques lamelles d'aluminium ayant reçu ainsi une certaine quantité de mercure. La photographie ne rend qu'imparfaitement la diversité d'aspect des corrosions obtenues. On y distingue toutefois très bien que la corrosion résultant d'une électrolyse de 50 cm<sup>3</sup> de solution contenant respectivement 0,4, 0,8, 2 et 20 γ de mercure (Nos 1 à 4) va en s'accentuant. On voit d'autre part les effets de corrosion produits par le mercure de l'urine d'un individu ayant subi, il y a 2 ans, une intoxycation mercurielle. La corrosion résultant respectivement de 50 cm<sup>3</sup> d'urine telle quelle et à la dilution de 1 : 10 (Nos 5 et 6) va en diminuant, si bien que par comparaison avec les effets de quantités connues de mercure, ces deux derniers essais permettent déjà d'évaluer la teneur en mercure de cette urine à un chiffre compris entre 4 et 8 γ/100 cm<sup>3</sup>.

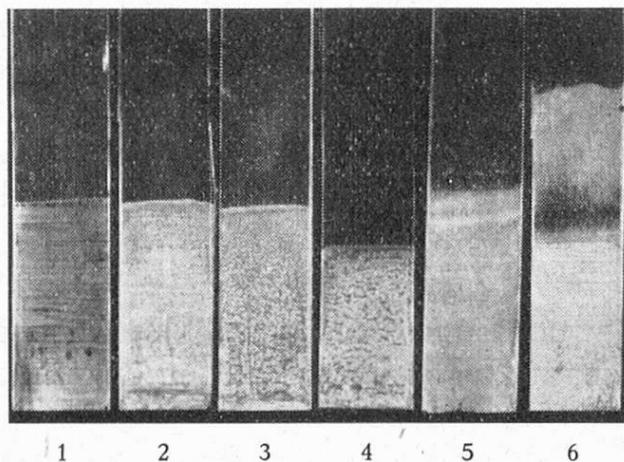


Fig.

Oxydation catalytique de lamelles d'aluminium sous l'influence de mercure déposé par électrolyse de 50 cm<sup>3</sup> de solution

	<i>Sublimé</i>	<i>Urine</i>
1.	0,4 γ Hg	5. Dilution 1 : 10
2.	0,8 γ Hg	6. Non diluée
3.	2 γ Hg	
4.	20 γ Hg	

## Littérature

- <sup>1)</sup> *Cazeneuve*, C. r. Ac. Sc. **130**, 1478 et 1561 (1900).
- <sup>2)</sup> *Stock et Zimmermann*, Ang. Ch. **41**, 546 (1928).
- <sup>3)</sup> B. **72**, 1844 (1939); B. **71**, 550 (1938) avec bibliographie des travaux antérieurs de *Stock* et de ses collaborateurs sur ce sujet.
- <sup>4)</sup> Ch. Ztg. **1932**, 87 et 206.
- <sup>5)</sup> Observations inédites.

La très intéressante conférence de M. le Prof. *Cherbuliez* est vivement applaudie et suivie d'une discussion nourrie.

Le Président, selon la coutume, cède alors sa place au vice-président, M. le Prof. *Högl*, qui donne la parole à M. le Dr. *P. Urech* pour une brève communication sur «Metallanalyse mittelst Hochvakuum». Comme il s'agit d'un sujet se rapportant moins aux recherches sur les denrées alimentaires, le conférencier s'est décidé de faire publier sa conférence sous une forme quelque peu plus étendue dans les «*Helvetica Chim. Acta*».

Dans une brève communication, M. le Dr. *M. Mottier* nous fait part de ses

## Notes sur la recherche de la phosphatase dans le lait

Monsieur le Président, Mesdames et Messieurs,

L'article 73 de l'O.D.A. traite du lait pasteurisé et de la pasteurisation du lait. Sous sa forme actuelle cet article n'est plus entièrement satisfaisant car il ne tient pas suffisamment compte des progrès réalisés dans ce domaine. C'est ainsi, par exemple, que les méthodes modernes de contrôle de la pasteurisation n'y sont pas indiquées.

La Commission suisse du lait s'est occupée et s'occupe de la révision de cet article 73. La nouvelle rédaction proposée poursuit l'objectif d'encourager le développement de la pasteurisation du lait. Elle prévoit la pasteurisation à haute température, c'est-à-dire à 85° C au moins, celle par chauffage à 74—75° C pendant 15 secondes au moins, et enfin la pasteurisation de longue durée par chauffage à 65° C pendant 30 minutes. De plus, et ce sera un grand progrès dans le domaine de l'hygiène et de la santé publique, elle prévoit l'obligation de pasteuriser le lait qui doit être consommé froid, ainsi que c'est le cas du lait vendu aux écoliers, aux sportifs, dans les usines, les établissements de bain, les restaurants, etc. Rappelons à ce sujet que l'année dernière, à Thoune, M. le Professeur *Kästli* a exposé dans une intéressante conférence les possibilités et les dangers de transmission de diverses maladies par le lait et que, dans sa conclusion, il a relevé toute l'importance qu'il y a de pasteuriser le lait destiné à être consommé froid.

Mais comment contrôle-t-on l'efficacité de la pasteurisation? C'est le problème que m'a prié d'examiner mon chef, M. le Professeur *Högl*, qui est également Président de la Sous-Commission pour le contrôle officiel du lait et des

produits laitiers. Ce problème a déjà fait l'objet de très nombreux travaux qui nous montrent que l'on dispose de diverses méthodes pour ce contrôle, les deux principales étant:

1. *La réaction de Storch*<sup>1)</sup>, qui repose sur la formation, par la peroxydase contenue dans le lait cru, d'une matière colorée bleue, à partir du mélange eau oxygénée et paraphénylène-diamine. Si l'on ajoute ces substances à du lait cru, le mélange prend immédiatement une coloration bleue. En chauffant le lait pendant quelques minutes au-dessus de 79° C la peroxydase est détruite et le lait ainsi traité ne donne plus la réaction de Storch.

Cette réaction permet de contrôler l'efficacité de la pasteurisation à haute température.

2. *La réaction de la phosphatase*, qui repose sur la mise en évidence de produits de scission d'esters phosphoriques par une enzyme, la phosphatase, contenue dans le lait cru. La chaleur détruit cette enzyme: c'est ainsi que sa destruction est presque instantanée à 75° C ou au-dessus<sup>2)</sup>. Plus important encore est le fait que la phosphatase est détruite par un chauffage de 30 minutes à 62,8° C (145° F), alors qu'une exposition de 20 minutes à cette même température ou de 30 minutes à 61,9° C (143,5° F) en laissent des quantités décelables<sup>2)3)4)</sup>.

La réaction de la phosphatase permet donc de contrôler l'efficacité de la pasteurisation à basse température.

Avant d'aller plus avant il convient de préciser que le mot phosphatase que nous utilisons est en réalité un terme générique qui s'applique à toute une série d'enzymes. On comprend en effet sous ce nom:

1. *des phosphomonoestérases*, c'est-à-dire des enzymes qui hydrolysent les monoesters de l'acide phosphorique. Cette catégorie d'enzymes se subdivise elle-même en monoestérases alcalines dont l'action optimum s'exerce au pH 9 à 10 (c'est le cas de la phosphatase du lait), et en monoestérases acides d'action optimum au pH 3 à 6, suivant les types (ce sont les phosphatases du sang, des os, du foie, etc.).
2. *des phosphodiesterases*,
3. *des pyrophosphatases*,
4. *la métaphosphatase*,
5. *des phospho-amidases*,
6. et enfin une série de phosphatases qui n'ont pas encore pu être classifiées.

Une excellente description de ces diverses enzymes se trouve dans l'ouvrage de *Sumner et Somers*<sup>5)</sup> et également dans le traité de *Schwab*<sup>6)</sup>. Au total il existe quelques 15 à 20 phosphatases différentes; leur constitution n'est pas connue. Celle qui nous intéresse, la phosphatase du lait, a été découverte par *Kay*. C'est en 1925 que ce chercheur en soupçonna l'existence après avoir observé qu'avait

lieu dans le lait une diminution spontanée des éthers phosphoriques accompagnée d'une augmentation correspondante de l'acide phosphorique inorganique, et c'est en 1934 qu'il prouva la justesse de son hypothèse en montrant que le lait libère l'acide phosphorique d'un glycérophosphate<sup>7</sup>).

Au début Kay avait choisi comme mesure de la concentration en phosphatase la vitesse de cette hydrolyse, en dosant la quantité d'acide phosphorique produit. Plus tard il modifia sa méthode et remplaça le glycérophosphate par le sel disodique du phénylphosphate, dosant le phénol libéré en le transformant en un composé bleu par réaction avec le réactif de Folin et Ciocalteu. Cette réaction permet un dosage colorimétrique.

On pourrait aussi titrer le phénol libéré pour autant qu'il soit présent en quantité suffisante<sup>8</sup>).

Mais les méthodes les plus modernes font appel à un autre réactif: la 2,6-dibromoquinonechlorimide, appelée aussi réactif de Gibb, qui a la propriété de se combiner avec le phénol pour donner un indophénol bleu<sup>9)</sup><sup>10)</sup><sup>11)</sup>. Cette réaction colorée est très sensible — 1 partie de phénol dans 20 millions pouvant être encore décelée — et très spécifique, car la 2,6-dibromoquinonechlorimide ne réagit qu'avec les phénols à position para libre<sup>4</sup>). C'est ainsi que, contrairement au réactif de Folin et Ciocalteu, elle ne réagit pas avec la tyrosine et le tryptophane. Les réactifs utilisés sont donc:

1. *le sel disodique du phénylphosphate*,
2. *la 2,6-dibromoquinonechlorimide*<sup>11)</sup><sup>12)</sup><sup>13)</sup>,
3. et *un tampon* approprié, variant suivant les auteurs et aussi suivant les produits laitiers examinés. Son but est d'amener le pH du lait à environ 9—10.

Une des raisons qui explique la sensibilité de cette réaction indophénolique est le fait que la molécule de phénol est transformée en un colorant environ 4 fois plus lourd.

Les principales méthodes qui utilisent les deux réactifs ci-dessus sont celles de Scharer<sup>4</sup>), d'Aschaffenburg et Neave (dérivée de celle de Scharer)<sup>14</sup>), d'Andersen<sup>15</sup>), et de Sanders<sup>16</sup>). En plus de ces diverses méthodes nous désirons en mentionner encore deux pour donner une idée de la variété des procédés utilisables, d'une part, et de l'ingéniosité des chercheurs, d'autre part. Il s'agit tout d'abord de la méthode de Huggins et Talalay<sup>17</sup>). Ces auteurs décrivent dans leur publication la préparation et l'utilisation — dans le cas du sérum du sang — du sel de sodium de l'ester phosphorique de la phénolphthaleine. La couleur rouge produite, en milieu alcalin, par la phénolphthaleine libérée peut être mesurée dans un colorimètre.

Cette méthode a été examinée par Sanders qui l'a trouvée moins précise que celles basées sur l'emploi du sel disodique du phénylphosphate comme substrat, ceci pour le lait et les produits laitiers. De plus Sanders a trouvé que la vitesse

d'hydrolyse de cet ester phosphorique de la phénolphtaléine est trop lente pour une application pratique aux produits laitiers et que la coloration rouge formée passe assez rapidement<sup>16)</sup>.

Quant à la deuxième méthode elle a fait l'objet d'une note de *Neumann*<sup>18)</sup>. Cet auteur décrit, très brièvement, la préparation et l'emploi — dans le cas du sang — de l'ester phosphorique de la fluorescéine. Ici c'est la fluorescence due à la fluorescéine libérée qui est mesurée. Cette méthode, bien que très sensible, semble moins intéressante pour le lait, ce dernier étant déjà fluorescent par lui-même.

Nous arrivons maintenant à la partie expérimentale de cette note. Nos essais ne sauraient constituer qu'une introduction au sujet étant donné le temps relativement court que nous avons pu leur consacrer jusqu'ici. Ils seront d'ailleurs poursuivis.

Nous n'avons pu examiner avec quelque détail que la méthode d'*Andersen*. Nous avons fait également quelques essais selon *Scharer*, d'une part, et *van Bever-Straub*<sup>19)</sup>, d'autre part. Notons, en passant, que *van Bever* et *Straub* utilisent le réactif de *Folin* et *Ciocalteu*. Quant à la méthode de *Sanders*, nous avons renoncé à l'examiner pour le moment, ayant appris qu'elle faisait l'objet d'une étude de la part de la Station fédérale du Liebefeld, étude qui fait l'objet d'une communication de M. le Dr. *Ritter*.

Nous commencerons par la méthode d'*Andersen*. Il est inutile de la décrire puisqu'elle a été publiée dans notre Journal. Rappelons seulement que le colorant indophénolique bleu formé est extrait au moyen d'un dissolvant approprié. Cette façon de procéder permet un travail plus propre et plus précis, auquel nous tenons à rendre hommage ici. Quant à l'appareil nécessaire pour cette extraction il peut être monté très simplement avec des pièces Meccano pour une quinzaine de francs \*).

*Andersen* prescrit une incubation de 1 $\frac{1}{2}$  heure à 37° C suivie — après addition de la 2,6-dibromoquinonechlorimide — d'un développement de la couleur pendant 1 heure à 25° C auquel s'ajoute encore 1 heure d'extraction. En comprenant toutes les manipulations intermédiaires on arrive à un total d'environ 4 $\frac{1}{2}$  — 5 heures, lectures au photomètre comprises, pour un essai, mais avec faculté d'en pouvoir mener parallèlement jusqu'à douze avec un équipement simple. Cette durée semble évidemment longue si on la compare avec celle requise par des méthodes plus rapides (1 $\frac{1}{2}$ —2 heures), mais elle est néanmoins beaucoup plus courte que les 18 ou 24 heures prescrites par d'autres méthodes. De toute façon les essais effectués selon la méthode d'*Andersen* se laissent bien et complètement exécuter en moins d'une journée, ce qui est un point important. Nous pouvons confirmer ici l'excellente reproductibilité des résultats qu'elle per-

---

\*) Celui que nous avons utilisé a été obligamment construit par M. *M. Potterat*.

met d'obtenir. Quant à sa sensibilité nous avons pu déceler au photomètre, et également à l'oeil nu, jusqu'à 0,1 % de lait cru dans du lait bouilli.

<i>Essai</i> (sur un même lait)	Trouvé phénol par cm <sup>3</sup> de lait
0,1 % lait cru	0,002 mg.
0,2 % lait cru	0,004 mg.
0,5 % lait cru	0,012 mg.

Sachant par les travaux de *Kay et Graham*<sup>2)20)21)</sup> que la teneur du lait en phosphatase peut varier dans d'assez grandes proportions suivant la vache examinée, sa race, et la période de sa lactation, et considérant d'autre part que le lait tel qu'il est vendu dans les laiteries est un lait de mélange qui, de ce fait, doit être assez régulier et constant, il était intéressant d'examiner au cours de quelques essais la variation quotidienne de la phosphatase pour se rendre compte de ses écarts. Comme on pouvait le prévoir ces derniers sont relativement faibles, ainsi que l'attestent les quelques chiffres suivants:

	Phénol par 1 cm <sup>3</sup> de lait
Essai I	0,011 mg.
» II	0,011 mg.
» III	0,012 mg.
» IV	0,012 mg.
» V	0,014 mg.
» VI	0,012 mg.
» VII	0,013 mg.
» VIII	0,009 mg.

La concentration choisie pour tous ces essais a été de 0,5 % de lait cru dans du lait bouilli. Il semble donc que l'on puisse utiliser pour comparer les diverses méthodes entre elles la quantité de lait cru que l'on peut encore déceler à l'oeil nu, quantité exprimée en % de lait cru par rapport au lait pasteurisé (ou bouilli). C'est ainsi que l'on pourra dire d'une méthode qui permet de déceler 0,1 % de lait cru qu'elle est 3 fois plus sensible qu'une autre qui ne permet pas de descendre au-dessous de 0,3 %, et vice versa. Il va sans dire que ceci n'enlève rien à la valeur du mode de faire habituel qui consiste à exprimer l'activité de la phosphatase par le nombre de mg. de phénol libéré par 1 cm<sup>3</sup> de lait.

Un autre point que nous avons désiré vérifier était la température à partir de laquelle la phosphatase est détruite lors d'une pasteurisation à basse température. Dans ce but nous avons chauffé du lait au bain-marie respectivement à 60, 62 et 65° C (température du lait) pendant 1/2 heure. Nous avons trouvé qu'après chauffage à 60° C la quantité de phosphatase est encore considérable, alors qu'il n'en reste plus que fort peu dans le lait chauffé à 62° C (la quantité trouvée correspondant à environ 0,2 % de lait cru) et pratiquement plus dans le lait chauffé à 65° C, confirmant ainsi les données de la littérature.

*Essai* (cuvette de 0,5 cm.)

60° C	trouvé: trop sombre pour une lecture
62° C	trouvé: 0,0040 mg. phénol pour 1 cm <sup>3</sup> de lait
65° C	trouvé: 0,0008 mg. phénol pour 1 cm <sup>3</sup> de lait

Avant de terminer ces quelques indications sur la méthode d'*Andersen* indiquons encore que le coût des produits chimiques \*) pour un essai, comprenant une détermination à blanc et une détermination proprement dite, se monte à environ 9 centimes.

Passant maintenant à la méthode de *Scharer* <sup>4)</sup> nous résumerons brièvement les observations que nous avons pu faire en utilisant les réactifs EWOS, liquides et tablettes \*\*). L'avantage de cette méthode est sa grande rapidité puisqu'elle donne un résultat au bout de 1<sup>1</sup>/<sub>4</sub> heures environ, au prix d'une sensibilité moindre il est vrai. Nous avons pu déceler ainsi à l'oeil nu 0,3 % de lait cru dans du lait bouilli. En ajoutant le renforçateur EWOS la sensibilité est augmentée; nous avons pu déceler ainsi, toujours à l'oeil nu, 0,2 % de lait cru dans du lait bouilli.

Essai	sans renforçateur	avec renforçateur
0,5 % lait cru dans lait bouilli	coloration bleue très visible	très visible
0,3 % lait cru dans lait bouilli	coloration bleue visible, plus faible	visible
0,2 % lait cru dans lait bouilli	même couleur dans les 2 tubes; pas visible	encore visible
0,1 % lait cru dans lait bouilli	même couleur dans les 2 tubes; pas de différence visible	même couleur dans les 2 tubes; pas de différence visible

Le coût des réactifs EWOS est assez élevé. Un essai comprenant une détermination à blanc et une détermination proprement dite revient à 40 centimes, sans renforçateur, et à 90 centimes, avec renforçateur.

\*) On peut se procurer la 2,6-dibromoquinonechlorimide chez: Eastman Kodak, à Rochester, N.Y.; Applied Research Institute, 2 East 23rd Street, à New York 10, N.Y.; British Drug Houses, Ltd., à Londres. Quant au sel disodique du phénylphosphate, il peut être obtenu de: Eastman Kodak; Applied Research Institute; British Drug Houses; Fluck S. A., à St-Gall.

\*\*) Livrés par la maison N. Gerber, à Zurich.

L'étude de cette méthode sera poursuivie, mais en utilisant les réactifs décrits par *Scharer*, plus économiques que les réactifs EWOS. Dans sa publication *Scharer* indique que sa méthode permet de déceler 0,5 % de lait cru dans du lait pasteurisé. Il se pourrait que cette sensibilité puisse être augmentée sans trop réduire la rapidité de la méthode.

Mentionnons, pour terminer, les quelques observations faites en utilisant la méthode de *van Bever et Straub*<sup>19)</sup>, dérivée de celle de *Kay*, qui fait appel au réactif de *Folin* et *Ciocalteu* pour le dosage colorimétrique du phénol libéré par l'action de la phosphatase sur le sel disodique du phénylphosphate. La durée d'incubation que prescrit cette méthode est de 18 heures à 37° C. Quant à sa sensibilité nous avons pu déceler avec elle, à l'oeil nu, jusqu'à 0,2 % de lait cru dans du lait bouilli. Parmi les inconvénients de cette méthode il convient de citer la longue durée de l'incubation et la manque de spécificité du réactif de *Folin* et *Ciocalteu*.

Une publication récente de *Kosikowsky et Dahlberg*<sup>22)</sup> — qui nous a été signalée par M. le Dr. *Ritter* — indique que l'on peut supprimer l'action des substances gênantes (tyrosine, tryptophane, tyramine) en extrayant par l'éther, en milieu acide, le phénol formé.

Nous arrivons maintenant à la conclusion de cette note. On voit par ce qui précède que les méthodes de contrôle de la pasteurisation ne manquent pas et que leur sensibilité semble suffisamment grande pour les besoins de la pratique du moins pour les méthodes basées sur l'action de la phosphatase. La sensibilité de la réaction de *Storch* est notablement moindre; en effet, elle ne permet guère de mettre en évidence moins de 3 % de lait cru dans du lait bouilli et, au mieux, 2 % en suivant les indications de *Finck*<sup>23)</sup>.

Nos préférences personnelles vont aux méthodes qui utilisent la 2,6-dibromoquinonechlorimide comme réactif du phénol vu leur simplicité relative et leur rapidité, et vu également la grande sensibilité et la spécificité du réactif utilisé. Avec une sensibilité suffisante — qui va jusqu'à 0,1 % de lait cru dans le lait pasteurisé — ces méthodes permettent un contrôle visuel de la pasteurisation, ce qui est très important, car il n'est pas toujours possible d'avoir à sa disposition des instruments tels qu'un photomètre de *Zeiss-Pulfrich* ou un colorimètre de *Lange* à cellule photoélectrique.

*Addendum:* En procédant selon *van Bever-Straub* un essai simple (4 tubes) revient à 40 centimes, et à 60 centimes pour un essai à double (6 tubes).

La méthode de *Sanders*, que nous avons examinée ultérieurement, revient à 5 centimes pour un essai simple (2 tubes) ou à 7,5 centimes pour un essai à double (3 tubes); dans le cas d'un lait âgé ou acide ces prix sont respectivement 8 et 12 centimes. Cette méthode de *Sanders* nous semble être la méthode de choix, vu sa grande sensibilité, sa rapidité, sa simplicité relative et son bon marché.

## Littérature

- 1) *U. Storch*: Z.U.N.G. **2**, 239 (1899).
  - 2) *H. D. Kay, W. R. Graham*: J. Dairy Res. **5**, 63—74 (Déc. 1933).
  - 3) *G. S. Wilson*: «The Pasteurization of Milk». Londres: Arnold. 1942—3. p. 63.
  - 4) *H. Scharer*: J. Dairy Science **21**, 21—34 (1938).
  - 5) *J. B. Sumner, G. F. Somers*: «Chemistry and Methods of Enzymes», 2e éd. 1947. New York: Academic Press Inc.
  - 6) *G. M. Schwab*: «Handbuch der Katalyse», Vol. 3: «Biokatalyse». 1941. Vienne: Springer.
  - 7) *H. D. Kay, W. R. Graham*: J. Dairy Res. **5**, 54 (1934).
  - 8) *A. Kossler, E. Penny*: Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **17**, 117 (1893).
  - 9) *H. D. Gibbs*: J. Biol. Chem. **72**, 649 (1927).
  - 10) *H. D. Gibbs*: J. Phys. Chem. **31**, 1053 (1927).
  - 11) *J. Goldenson, S. Sass*: Analytical Chem. **20**, 731—2 (août 1948).
  - 12) *Beilstein*, Vol. III. 3e éd. 337 (1897).
  - 13) *R. Möhlau*: B. **16**, 2845 (1883).
  - 14) *P. Friedländer, A. Stange*: B. **26**, 2262 (1893).
  - 15) *R. Aschaffenburg, F. K. Neave*: J. Dairy Res. **10**, 485—97 (1939).
  - 16) *A. C. Andersen*: Trav. Chim. alim. et d'Hyg. **39**, 65—70 (1948).
  - 17) *G. P. Sanders*: J.A.O.A.C. **31**, 306—18 (15 mai 1948).
  - 18) *C. Huggins, P. Talalay*: J. Biol. Chem. **159**, 399—410 (1945).
  - 19) *H. Neumann*: Experientia **4**, 74—5 (1948).
  - 20) *A. K. van Bever, J. Straub*: Le Lait **23**, 97—119 et 222—40 (1943).
  - 21) *H. D. Kay, W. R. Graham*: J. Dairy Res. **6**, 191—203 (mai 1935).
  - 22) *F. K. Neave*: J. Dairy Res. **10**, 475—84 (septembre 1939).
  - 23) *F. U. Kosikowsky, A. C. Dahlberg*: J. Dairy Science **31**, 561—7 (1948).
  - 24) *Finck*: Milchw. Forsch. **19**, 339 (1938).
- M. B. Ettinger, C. C. Ruchhoeft*: Analytical Chemistry **20**, 1191—6 (déc. 1948).  
*H. Aebi*: Helv. **31**, 1761—74 (1948).  
*H. Aebi, I. Abelin*: Helv. **31**, 1943—53 (1948).  
*R. H. De Meio*: Science **108**, 391—3 (1948).

Une dernière brève communication nous est présentée par M. le Dr. *W. Ritter* ayant pour titre:

## Der Nachweis der Pasteurisation von Milch und Milchprodukten durch die Phosphatasereaktion

Nachdem Sie durch Herrn Dr. M. Mottier soeben eine ausgezeichnete Einführung in das Wesen der Phosphatasereaktion erhalten haben, soll nachfolgend vor allem über die praktische Anwendung der Probe auf milchwirtschaftlichem Gebiet berichtet werden.

Die Vernichtung von pathogenen Mikroorganismen, vor allem von *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella abortus*, hämolytischen Streptokokken usw. der Milch und der daraus hergestellten Produkte ist von grosser hygienischer Bedeutung. Die starke Keimverminderung der Milch durch die Pasteurisation ist wichtig für die bessere Haltbarkeit der Trinkmilch und für die reibungslose Durchführung verschiedener technischer Prozesse. Daher kommt auch dem einfachen, aber einwandfreien Nachweis einer ausreichenden Erhitzung der Milch eine grosse Bedeutung zu.

Die bisherigen Pasteurisations-Nachweis-Methoden wurden dieser Aufgabe in dem Sinne nicht vollständig gerecht, als die Inaktivierung der betreffenden Enzyme oder die Änderung der physikalisch-chemischen Verhältnisse nicht genau mit der Abtötung der pathogenen Mikroorganismen übereinstimmte. So wird die Peroxydase erst bei Temperaturen oberhalb 78° in kurzer Zeit abgetötet und spricht daher auf die übliche Dauerpasteurisation überhaupt nicht an<sup>1)</sup>. Umgekehrt erfolgt die Zerstörung der Amylase<sup>2)</sup> bereits bei solchen Temperaturen, die für eine sichere Vernichtung der pathogenen Mikroorganismen der Milch nicht ausreichen (z.B. innerhalb einer halben Stunde bei 50—53° C). Am nächsten kommt den wirklichen Verhältnissen die cremometrische Probe von *Orla-Jensen*<sup>3)</sup>, doch erfasst auch dieser Pasteurisationsnachweis erst Erhitzungsgrade, die zu einer vielfach unerwünschten Veränderung der Milch führen, nämlich zu einer Störung ihrer Aufrahmungsverhältnisse. Zudem ist diese Methode auf Milchprodukte nicht anwendbar.

Demgemäß beruht der grosse Vorteil der Phosphatasereaktion<sup>4)</sup> vor allem darin, dass sie gerade unter solchen Bedingungen negativ wird, die den schon bekannten Vernichtungsarten der pathogenen Mikroorganismen der Milch entsprechen. Eine negative Phosphatasereaktion tritt demnach bei solcher Milcherhitzung auf, die als für die Abtötung der Pathogenen genügend angesehen wird, wobei schon eine Dauerpasteurisation um einen halben Grad zu tief oder während 20 statt 30 Minuten zu einem positiven Test führt<sup>5)</sup>.

Es wurde verschiedentlich untersucht, wie lange und wie hoch Milch erhitzt werden muss, um das als relativ widerstandsfähiger Keim der Milch bekannte Tuberkelbakterium mit Sicherheit abzutöten. Hierbei ergaben sich folgende Werte: Bei 60° C in 15—20 Minuten, bei 70° in 10 Sekunden<sup>6)</sup>. Die Abtötungszeiten bei höheren Temperaturen sind recht schwierig zu bestimmen, da die zum Erhitzen und Abkühlen der Proben benötigte Zeit verhältnismässig lang ist, ver-

glichen mit der Haltezeit bei der zu untersuchenden Temperatur. Aus diesem Grunde wurden verschiedene Untersuchungen nicht im Laboratorium, sondern mit Apparaten der Praxis durchgeführt.

Die offiziellen Vorschriften für die Durchführung der Pasteurisation der Milch lauten in

England: 30 Minuten auf  $62,8^{\circ}\text{C}$  oder 15 Sekunden auf  $72^{\circ}\text{C}$ ,

Amerika: 30 Minuten auf  $61,7^{\circ}\text{C}$  oder 15 Sekunden auf  $71^{\circ}\text{C}$ .

Die nachfolgende Abbildung 1 zeigt ein auf amerikanische Autoren<sup>7)</sup> zurückgehendes Zeit-Temperatur-Diagramm, wobei die drei Linien folgendes bedeuten:

- 1 = Abtötung der pathogenen Mikroorganismen,
- 2 = Standard für die Durchführung der Pasteurisation,
- 3 = Störung der Aufnahme.

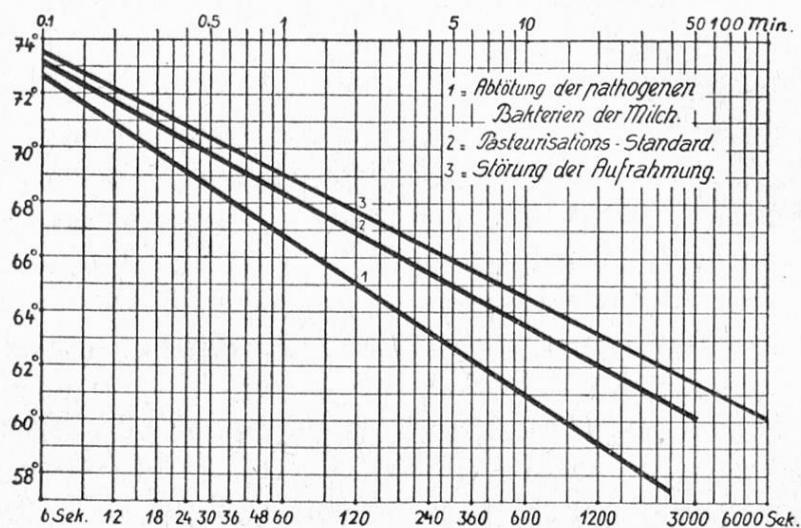


Abbildung 1

Wir verwendeten für unsere Untersuchungen die Methode von *G. P. Sanders* und *O. S. Sager*<sup>8)</sup>, einen im allgemeinen ohne Butylalkoholextraktion arbeitenden Test, der aber gleichwohl die quantitative Bestimmung des aus dem Dinatriumphenylphosphat abgespaltenen Phenols und damit der Phosphataseaktivität erlaubt.

Sie beruht darauf, dass die Milch mit dem Dinatriumphenylphosphat eine Stunde bei  $38^{\circ}\text{C}$  in Barium-Borat-Puffer bebrütet wird. Durch Fällen mit Zinksulfat oder mit einer Mischung von Zink- und Kupfersulfat wird ein wasserklares Filtrat erhalten. Durch die Zugabe von sogenanntem Farbentwicklungs-puffer zum Filtrat wird der optimale pH für die Indophenolbildung eingestellt und die durch das Dibrochinonchlorimid entstehende Färbung colorimetriert.

Das meist etwas freies Phenol enthaltende Dinatriumphenylphosphat wird durch die gleiche Reaktion mit Dibromchinonchlorimid und nachfolgendes Extrahieren des Indophenols mit Butylalkohol vom Phenol befreit.

Bei unpasteurisierten Proben muss das entstandene Filtrat mit Farbentwicklungsbuffer mehr oder weniger stark verdünnt werden, da die Reaktion sonst zu intensiv wird, um colorimetrisch erfasst werden zu können.

Wir geben in allen Fällen als Mass für die Phosphataseaktivität die Anzahl  $\gamma$  Phenol an, die von  $1 \text{ cm}^3$  oder  $1 \text{ g}$  der Substanz in einer Stunde bei  $38^\circ \text{C}$  freigelegt werden.

*Sanders* und *Sager* geben an, dass mit ihrer Methode  $0,05\%$  Rohmilch in pasteurisierter Milch nachgewiesen werden können.

Bei eigenen Versuchen über den Nachweis von Rohmilch in selber erhitzter Milch ergaben sich folgende Zahlen:

	$\gamma$ pro $\text{cm}^3$ und Stunde	
Rohmilch	1350	
Pasteurisierte Milch :		
ohne Rohmilch	3,4	
mit $0,01\%$ Rohmilch	3,6	
mit $0,1\%$ »	5,0	
mit $1,0\%$ »	29,25	
mit $10,0\%$ »	247,0	
		$\gamma$ pro $\text{cm}^3$ und Stunde ( $\frac{1}{2} \text{ h auf } 63^\circ \text{C erhitzt}$ )
Rohmilch	1513	$\gamma$ pro $\text{cm}^3$ und Stunde (auf $71^\circ \text{C}$ erhitzt)
Pasteurisierte Milch :		
ohne Rohmilch	6,6	5,7
mit $0,05\%$ Rohmilch	7,8	6,5
mit $0,08\%$ »	7,9	6,6
mit $0,1\%$ »	8,3	8,1
mit $0,2\%$ »	11,7	10,1
mit $0,3\%$ »	13,6	14,4
mit $0,4\%$ »	17,0	15,3
mit $0,5\%$ »	18,8	18,2

Als Grenze für die richtige Pasteurisation der Milch nehmen wir zirka  $10 \gamma$  pro  $\text{cm}^3$  an. In Vergleichsversuchen mit dem Zusatz von Rohmilch zu selbst pasteurisierter Milch lassen sich  $0,1\%$  Rohmilch nachweisen, doch können unserer Ansicht nach erst etwa  $0,2$  bis  $0,3\%$  als wirklich sicher angesehen werden wegen Schwankungen im Phosphatasegehalt der Rohmilch und sonstigen Unterschieden auch bei richtig erhitzter Milch.

Bei Rahm kann nach unseren Erfahrungen ein Wert von zirka  $10 \gamma$  als oberster zulässiger Wert für richtige Pasteurisation angenommen werden. Der Phosphatasegehalt des Rahmes ist unter normalen Umständen wesentlich höher als der der Vollmilch, so dass schon aus diesem Grunde bei der Erhitzung des

Rahmes auch etwas mehr Phosphatase übrig bleibt als bei Vollmilch. Die Bestimmung der Phosphataseaktivität in 20 Schlagrahmproben ergab folgende Werte:

| $\gamma/\text{cm}^3$ |
|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| 12,0                 | 8,0                  | 14,1                 | 17,0                 | 7,2                  | 20,4                 | 20,3                 |
| 21,0                 | 20,4                 | 19,2                 | 4,4                  | 4,0                  | 9,6                  | 4,4                  |
| 18,5                 | 9,8                  | 12,6                 | 5,1                  | 4,1                  | 4,4                  |                      |

also Zahlen zwischen 4,0 und 20  $\gamma$  pro  $\text{cm}^3$  und Stunde.

Beim Zentrifugieren der Milch verteilt sich die Phosphatase so, dass die Aktivität des rohen Rahmes ungefähr doppelt so hoch ist wie die der Magermilch.

Bei der Labgerinnung der Vollmilch weist das Coagulum den höheren Phosphatasegehalt auf als die Molke. Aus diesem Grunde zeigt auch Milchrahm eine höhere Phosphataseaktivität als Molkenrahm. So ergaben sich folgende Zahlen:

	$\gamma \text{ pro cm}^3$			
Vollmilch	1000			
Rahm	1480			
Magermilch	880			
Labcoagulum	2070			
Molke	500			
Milchrahm (Gebsenrahm)	1500	1590	1375	1520
Molkenrahm	670	880		

Aus diesen Gründen erklärt es sich auch, dass man bei der Phosphataseprobe nicht an alle Milchprodukte gleiche Anforderungen stellen darf. Im allgemeinen sollte man unserer Ansicht nach ungefähr 0,5—1,0 % der ursprünglichen Phosphataseaktivität als Grenze für eine ausreichende Pasteurisation annehmen.

Neuseeländische Forscher nehmen an, dass man *Butter* aus kurzzeiterhitztem Rahm nicht mit der Phosphatasereaktion prüfen könne, da auch bei einwandfreier Pasteurisation Phosphatase zurückbleibe, die in der Butter angereichert werde<sup>9</sup>). Tatsächlich enthält Butter aus pasteurisiertem Rahm recht hohe Phosphatasewerte, wenn die festgestellte Aktivität nur auf den wässerigen Anteil (angenommen 15 %) oder sogar nur auf das waschwasserfreie Butterserum (im allgemeinen zirka 7,5 %) berechnet wird. So ergab die Untersuchung einer Anzahl schweizerischer Vorzugsbutterproben (bei deren Herstellung der Rahm allgemein auf 86—92° C erhitzt wird) folgende Werte:

Nr.	Phosphataseaktivität in $\gamma$ pro g		
	pro g Butter	pro g Wasser der Butter	pro g waschwasser- freies Butterserum
A	3,0	20	40
B	1,8	12	24
C	1,9	12,7	25,4
D	4,4	29	58
E	2,5	16,7	33,4
F	2,0	13,4	26,8
G	1,3	8,3	16,6
H	3,5	23,0	46,0
J	1,6	10,7	21,4
K	2,1	14,0	28,0
L	3,3	22,0	44,0

Während die Werte für die Gesamtbutter recht niedrig sind, ergeben sich für das waschwasserfreie Serum der Butter durchwegs zu hohe Werte. Es ist dies zurückzuführen auf die Anreicherung der Phosphatase im Butterserum, was sich namentlich ergibt bei der Betrachtung der Werte für Butter aus unpasteurisiertem Rahm:

### 1. Milchzentrifugenbutter

Nr. der Butter	Phosphataseaktivität in $\gamma$ pro g		
	bezogen auf 1 g Butter	bezogen auf 15% Wasser	bezogen auf 7,5% wasch- wasserfreies Butterserum
A	167	1100	2200
B	113	750	1500
C	409	2700	5400

## 2. Butter aus Gebsenrahm und Molkenrahm

Nr. der Butter	Phosphataseaktivität in $\gamma$ pro g		
	bezogen auf 1 g Butter	bezogen auf 15% Wasser	bezogen auf 7,5% waschwasserfreies Butterserum
A	335	2200	4400
B	426	2800	5600
C	103	635	1370
D	137	915	1830
E	414	2150	4300
F	243	1620	3240
G	345	2300	4600
H	643	4300	8600
J	793	5300	10600

## 3. Butter aus Gebsenrahm und Vorbruch

Nr. der Butter	Phosphataseaktivität in $\gamma$ pro g		
	bezogen auf 1 g Butter	bezogen auf 15% Wasser	bezogen auf 7,5% waschwasserfreies Butterserum
A	482	3200	6400
B	167	1100	2200
C	65	430	860
D	183	1200	2400

#### 4. Butter unbekannter Fabrikationsart

Nr.	Phosphataseaktivität in $\gamma$ pro g		
	pro g Butter	pro g Wasser der Butter	pro g waschwasser- freies Butterserum
A	3,2	21	42
B	165	1100	2200
C	5,8	39	78
D	10,4	69	138
E	269	1800	3600
F	3,9	26	52

Man sieht aus diesen Zahlen, dass sich namentlich auch bei Butter aus unerhitztem Rahm bei der Umrechnung auf die waschwasserfreie Butterflüssigkeit ausserordentlich hohe Phosphataseaktivitäten ergeben, die zum Teil weit höher sind als die Zahlen für den rohen Rahm. Offensichtlich hat man es im Butterserum mit einer ähnlichen Anreicherung der Phosphatasen zu tun wie bei den Phosphatiden, die ebenfalls im Butterserum in wesentlich höherer Konzentration vorhanden sind als in der Buttermilch<sup>10)</sup>. Die Untersuchung der Phosphataseaktivität in zwei Proben roher Buttermilch ergab 2100 und 1780 pro cm<sup>3</sup>, wobei es sich im letzteren Fall um Buttermilch aus einer Mischung von Sirtenrahm + Gebsenrahm handelte.

Die Untersuchung einer Anzahl Muster verschiedener Käsesorten zeigte, dass diese nur in relativ seltenen Fällen als aus pasteurisierter Milch hergestellt betrachtet werden können. Sanders und Sager nehmen als Grenze für die richtige Pasteurisation der zur Käsebereitung dienenden Milch 12  $\gamma$  Phenol pro g Käse an, doch darf auch dieser Grenzwert vielleicht auf 20  $\gamma$  pro g Käse angesetzt werden. Es ergab sich in einigen Fällen, dass Käse, die eigentlich aus pasteurisierter Milch fabriziert worden sein sollten, zu hohe Phosphatasewerte aufwiesen. Eine Anzahl Phosphatasezahlen sind in der nachfolgenden Tabelle enthalten.

Art des Käses		$\gamma$ pro g
Emmentaler	A	430
	B	257
	C	507
	D	285
	E	334
	F	175
	G	710
	H	122
Sbrinz		554
Gruyére	A	770
	B	1427
	C	1290
	D	866
	E	500
	F	550
	G	2240
Tilsiter	A	2687
	B	2503
	C	2950
	D	3065
	E	3373
	F	3200
	G	3813
	H	40,0
Walliserkäse		2000
Limburger	A	2900
	B	57
Edamer		672
Camembert	A	120
	B	170
	C	273
Reblochon	A	1900
	B	1590
	C	1545

Art des Käses		$\gamma$ pro g
Brie	A	642
	B	385
	C	12
Blauschimmelkäse		202
Gorgonzola		229
Vollmilchquarg		10,4
Magermilchquarg	A	13,2
	B	11,9
Typ Port-Salut	A	115
	B	116
	C	20
	D	21
	E	36
	F	97
	G	36
	H	112
	J	82
Typ Bel-Paese	A	1500
	B	2670
	C	1500
	D	18,6
Typ Münster		205
Typ Rahmkäsli	A	10
	B	1550
	C	2275

Wie die Zahlen zeigen, sind die in den verschiedenen Käsesorten vorkommenden Phosphatasemengen außerordentlich vielfältig. Diese verschiedenen Aktivitäten sind zweifellos von allerlei Umständen abhängig, wie zum Beispiel:

Erhitzung der Milch,  
Wassergehalt des Käses,  
Fettgehalt des Käses,  
Erhitzung des Käses während der Fabrikation,  
Wirkung der Säuerung während der Fabrikation,  
Einfluss von phosphatasebildenden Mikroorganismen.

Hier müssen weitere Untersuchungen Klarheit schaffen, wobei vor allem zu versuchen sein wird, die ursprüngliche Milchphosphatase von einer allfälligen mikrobiellen Phosphatase klar und quantitativ zu unterscheiden.

Obwohl die Phosphatasereaktionen, darunter speziell auch die Methode von *Sanders* und *Sager*, von sehr weitgehender Anwendungsfähigkeit sind auf alle Milchprodukte, sollen doch einige Faktoren kurz betrachtet werden, die den richtigen Ablauf der Reaktion stören können.

Es betrifft dies einmal das *Sauerwerden* der Milch. An sich ist saure Milch oder saurer Rahm ohne weiteres verwendbar für die Durchführung des Testes. Immerhin bestehen gewisse Schwierigkeiten darin, dass infolge des höheren Säuregrades der Milch die fertige Mischung von 1 cm<sup>3</sup> Milch mit 8 cm<sup>3</sup> substrathaltigem Puffer nicht mehr die für die Tätigkeit der Phosphatase optimale alkalische Reaktion von pH 10,0 aufweist. Diesem Umstande kann dadurch Rechnung getragen werden, dass die Milch oder der Rahm vor der Durchführung des Testes neutralisiert werden. Wenn die Milch bis pH 4,3—4,5 gesäuert wird, so sinkt die Phosphataseaktivität auf Null, lässt sich aber durch Neutralisieren wieder auf 70—100 % steigern, während sie bei Säuerung bis pH 4 oder tiefer dauernd zerstört wird. Eigene diesbezügliche Versuche ergaben kein klares und eindeutiges Resultat, indem die Säuerung wohl eine Schwächung, aber keine völlige Zerstörung und anderseits die Neutralisation auch keine gleichmäßige Wiederherstellung des Enzyms ergab. Allgemein ist zu beachten, dass nur frische Milch der Prüfung auf Pasteurisation unterworfen werden sollte.

Zu beachten ist ferner die Wirkung von *Konservierungsmitteln*. Bei 0,2 % *Kalumbichromat* beobachteten wir in Bestätigung von Angaben der Literatur keine Schädigung der Phosphatase. In Schweden zum Beispiel werden die auf Pasteurisation zu prüfenden Milchen mit Kalumbichromat konserviert.

Bei Verwendung von *Formaldehyd* fanden wir bei höheren Konzentrationen eine Schädigung, bei niedrigeren, wie sie für praktische Zwecke in Frage kommen, nicht mehr. Es ergaben sich in zwei Versuchen folgende Phosphataseaktivitäten von roher Vollmilch:

Menge 40%o-Formalin pro Liter Milch cm <sup>3</sup>	$\gamma$ Phenol pro cm <sup>3</sup> Milch	Noch vorhandene Phosphatase in % der ursprünglichen	
100	7,0	4,7	0,59
50	33,0	24,0	2,8
20	205	176	17,4
10	600	477	51,0
5	850	735	72,0
2	1080	997	91,5
1	1170	982	99,0
0,5	1170	1040	99,0
0,2	1160	1022	98,0
0,1	1240	1118	105,0
—	1180	1117	100,0
			100,0

Ein weiterer Umstand, der berücksichtigt werden muss, ist die Tätigkeit *mikrobieller Phosphatasen*, die unter Umständen eine ungenügende Pasteurisation vortäuschen können. Dies ist zum Beispiel möglich bei pasteurisierter Milch, in der bereits wieder eine Keimvermehrung eingesetzt hat, sowie namentlich bei älteren Milchprodukten, wie Butter und vor allem Käse.

Es bestehen hier zwei Möglichkeiten der Einwirkung, nämlich die Produktion von Bakterien- und Pilzphosphatasen, sowie die direkte Bildung von Phenol oder phenolartigen Stoffen durch Mikroorganismen, z.B. aus dem Casein.

Das bereits im Käse vorgebildete Phenol kann dadurch erfasst werden, dass der Käse mit dinatriumphenylphosphatfreiem Bariumboratpuffer behandelt wird. Die auf diese Weise festgestellte Menge an freiem Phenol war in allen von uns untersuchten Fällen gering.

Die Unterscheidung der originären alkalischen Milchphosphatase von eventuellen mikrobiellen Phosphatasen ist weniger einfach. Man kann Gebrauch machen von der im allgemeinen höheren Temperaturbeständigkeit der Bakterien- und Pilzphosphatasen<sup>11)</sup>. Eine weitere Unterscheidungsmöglichkeit besteht darin, dass mikrobielle Phosphatasen nicht nur bei alkalischer, sondern auch bei saurer Reaktion aktiv sind (pH 4—6), während Milchphosphatase bei pH-Werten unterhalb 8 unwirksam ist<sup>11)</sup>. Zur annähernden Ermittlung der mikrobiellen Phosphatasen wird daher die zu untersuchende Probe 5 Minuten auf 70° C erhitzt, wodurch die Milchphosphatase vollständig abgetötet wird, während die mikrobielle grösstenteils erhalten bleiben soll.

Diesbezügliche Versuche ergaben bei zwei Proben Reblochonkäse folgendes Ergebnis:

	Reblochon A	Reblochon B
Ohne Dinatriumphenylphosphat (freies Phenol)	4,5 γ/g	7,1 γ/g
Mit Substrat, nach Erhitzung auf 70° 5 Minuten	15,2 γ/g	13,2 γ/g
Mit Substrat, unpasteurisiert	1800 γ/g	1700 γ/g

Im vorliegenden Falle macht also die mikrobielle Phosphatase nicht einmal 1 % der gesamten Phosphatase aus, und die Menge des vorgebildeten Phenols ist noch kleiner. Immerhin wird es sich gleichwohl rechtfertigen, bei Käse, der auf die Herstellung aus pasteurisierter Milch geprüft werden muss, nur Substanz aus dem Innern zu nehmen und die Rindenpartien tunlichst zu vermeiden <sup>8)</sup>. Denn es gibt eine ganze Anzahl Mikroorganismen, die beträchtliche Mengen Phosphatase bilden können, die unter Umständen fehlende Pasteurisation vertäuschen kann <sup>12)</sup>. Als Phosphataseproduzenten sind namentlich bekannt Vertreter von Escherichia, Aerobacter, Pseudomonas, Bacillus, Penicillium und Aspergillus. Die gewöhnlichen Milchsäurebakterien, Propionsäurebakterien, Bacterium linens (Käse-Rot-Schmiere-Bakterium) und Oidium lactis sollen negativ sein <sup>11)</sup>. Die Phosphataseaktivität soll zum Beispiel bei Pseudomonas putidum sehr hoch sein, bei Pseudomonas fluorescens aber fehlen <sup>12)</sup>.

Eigene Versuche, bei denen Ausstriche auf Nährböden mit steriler Milch abgeschwemmt wurden, ergaben bei einzelnen Versuchen praktisch negative Werte, während andere immerhin Aktivitäten von 80 und 133 γ Phenol pro cm<sup>3</sup> Milch ergaben. Nach 48stündiger Bebrütung derartiger Kulturen in steriler Milch ergaben sich neben negativen Werten auch Phosphataseaktivitäten von 29, 83, 120 und 600 γ/cm<sup>3</sup>.

Untersuchungen über den Zusammenhang von *Pasteurisationstemperatur und Erhitzungszeit* bei der Abtötung von Enzymen sind einfach durchzuführen bei niedrigen Temperaturen, das heisst bei relativ langen Erhitzungszeiten. Sie sind bedeutend schwieriger, wenn nicht unmöglich, bei höheren Temperaturen, bei welchen zum Inaktivieren der Phosphatase eventuell nur Bruchteile von Sekunden notwendig sind. Hier tritt normalerweise die Zerstörung des Enzyms schon ein während der Erhitzung auf die gewünschte Temperatur, da diese verhältnismässig lange dauert.

In der Literatur sind verschiedene Massnahmen beschrieben, mit denen versucht wurde, das Problem zu lösen. *Holland* und *Dahlberg* <sup>13)</sup> arbeiteten mit kleinen Kupfergefassen, die in Wasser getaucht wurden, das 30° F höher war als die gewünschte Pasteurisationstemperatur, wobei sie bis zum Erreichen der gewünschten Temperatur erhitzten. *Prucha* und *Corbett* <sup>14)</sup> benützten Glasampullen in einem 10° F über die gewünschte Temperatur erhitzten Wasserbad. *Zäch* <sup>15)</sup> bediente sich einer Glasspirale, die er in Wasser der gewünschten Temperatur eintauchte, und *Sanders* und *Sager* <sup>16)</sup> drückten die Milch durch eine 30 Fuss lange Metallröhre, die sich in Wasser der gewünschten Temperatur befindet. Die beiden letzteren Verfahren entsprechen einigermassen der Arbeitsweise der Kurzzeit-Erhitzer der Praxis.

Mit all diesen Methoden gelangt man nicht zu einer wirklich momentanen Aufwärmung der Milch auf die gewünschten Temperaturen, weshalb die Resultate der verschiedenen Forscher etwas auseinandergehen.

Die Bedeutung der Aufwärmungszeit zeigte sich in eigenen Versuchen schon bei Pasteurisationstemperaturen bei 60—66° C. Hier gelingt es nicht, überhaupt nur die gewünschten Temperaturen in Reagensgläsern mit 10 cm<sup>3</sup> Milch im Wasserbad zu erreichen, ohne dass bereits ein gewisser Teil der Phosphatase zerstört wird.

Die Wirkung der Aufwärmungszeit auf die Abtötung der Phosphatase ergibt sich auch bei Versuchen über haushaltmässige Pasteurisation der Milch. Wir erhitzten je 2½ Liter Milch in einer Pfanne auf dem elektrischen Herd bis zum Erreichen der gewünschten Temperatur, worauf sofortiges Abkühlen der Pfanne und des Inhaltes durch Einstellen in kaltes Wasser erfolgte. Die nach genügender Abkühlung entnommenen Milchproben zeigten folgende Phosphataseaktivitäten: Bei Erhitzung auf

70° C	6,4 γ/cm <sup>3</sup>
69° C	7,15 γ/cm <sup>3</sup>
68° C	10,0 γ/cm <sup>3</sup>
67° C	32,0 γ/cm <sup>3</sup>

Unter diesen Umständen wurde also die Milch durch ein kurzes Erwärmen auf 68° C genügend pasteurisiert, wenn es auch zweckmäßig ist, mit der Temperatur etwas höher zu gehen oder etwas länger zu erhitzen.

Eine genaue und einleuchtende Methode, die kurzfristige Einwirkung hoher Temperaturen auf die Phosphatase oder andere Enzyme zu studieren, wurde erst in den letzten Wochen bekannt: In der dänischen milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt in Hilleröd<sup>17)</sup> wird folgendermassen vorgegangen: In einer Spritze werden 0,25 cm<sup>3</sup> eines «Enzymkonzentrats» (nämlich einer rohen Buttermilch) auf 37° C vorgewärmt. Diese Temperatur ist für das Enzym absolut unschädlich. In einem Wasserbad befindet sich eine Ampulle aus dünnwandigem Glas mit 0,75 cm<sup>3</sup> pasteurisierter Magermilch bei einer solchen Temperatur, dass beim Einspritzen der 0,25 cm<sup>3</sup> Enzymkonzentrat von 37° gerade die gewünschte Pasteurisationstemperatur entsteht. Im gleichen Moment des Einspritzens wird die Ampulle in ein neues Wasserbad mit der Versuchstemperatur verbracht. Die Mischung wird die vorgesehene Zeit bei der betreffenden Temperatur gehalten und dann die Ampulle in ein Gefäß mit Eiswasser verbracht. Das Einspritzen soll nicht mehr als 0,3 Sekunden, das Hinüberbringen in das Versuchswasserbad nicht mehr als 0,1 Sekunden und die Abkühlung auf unschädliche Temperaturen nicht mehr als 1 Sekunde benötigen.

Auf diese Weise gelingt es, die langen Aufwärmungszeiten mit ihrem zerstörenden Einfluss weitgehend auszuschalten und nur die eigentliche Erhitzungszeit und -temperatur einwirken zu lassen. Es wird dann jeweils die Phosphatase-

aktivität der unerhitzten Mischung sowie diejenige der erhitzten bestimmt und die übrigbleibende Phosphatase in % ausgerechnet. Die nachfolgende Kurvendarstellung haben wir nach diesen Angaben ausgerechnet und aufgezeichnet. Sie lässt mit ziemlicher Genauigkeit für jede in Frage kommende Pasteurisations temperatur und -zeit das Ausmass der Zerstörung der Phosphatase erkennen.

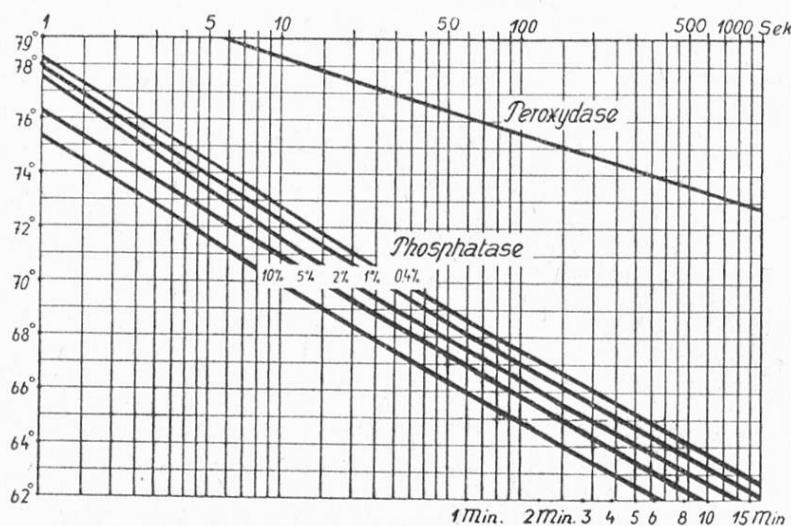


Abbildung 2

Auf der Abbildung 2 ist neben den Kurven für die übrigbleibende Phosphataseaktivität auch die Abtötung der Peroxydase, wie sie sich aus den Versuchen von *van Dam*<sup>1)</sup> ergibt, eingezzeichnet.

Bei den in der Praxis verwendeten Apparaten herrschen meist etwas weniger übersichtliche Verhältnisse. Spezielle Einrichtungen für die *Dauerpasteurisation* bestehen in der Schweiz wohl kaum. Wo eine Dauerpasteurisation durchgeführt wird, geschieht dies meist behelfsmässig, im grossen zum Beispiel in einem Rahmreifer oder einem Tank mit Rührwerk, im kleinen in einer Milchkanne im Wasserbad usw. Dagegen verfügen sehr viele Betriebe über einen Plattenpasteur älteren oder neueren bis neuesten Systems.

Bei den *Plattenpasteuren* ist wohl die höchste erreichte Temperatur zu bestimmen, doch die Zeit, während welcher diese Temperatur einwirkt, ist nicht genau bekannt. Ausserdem tragen auch die Temperaturen unterhalb der maximalen unter Umständen zur Zerstörung der Phosphatase bei. Zudem ist zu berücksichtigen, dass der Fluss der Milch oder des Rahmes nicht gleichmässig erfolgt, sondern einzelne Teile durchlaufen den Pasteur schneller, andere langsamer, als es dem Durchschnitt entspricht. Dies zeigt sich nicht nur bei der Bestimmung der Durchflusszeit durch den Apparat, sondern auch bei der Untersuchung des Einflusses verschiedener Pasteurisationszeiten auf die Abtötung der Phosphatase. Allgemein ergibt sich, dass für die verschiedenen Plattenpasteure auch verschiedene Pasteurisationstemperaturen angewendet werden müssen, um

eine vollständige Abtötung der Phosphatase zu gewährleisten, wobei neben der allgemeinen Konstruktion des Apparates auch die Schaltung der Platten und die Pumpenleistung von Bedeutung sind. Bei vielen Apparaten ist die Regulierung und Konstanthaltung der Temperatur schwierig und erfordert ständige Überwachung.

### Zusammenfassung

Die Phosphataseprobe ist ein sehr brauchbares Mittel, um den Erhitzungszustand von Milch, Rahm, Buttermilch, Butter, Käse, Molke und weiteren Produkten aus Milch festzustellen. Neben der Besprechung der wichtigsten Grundlagen der Durchführung der Probe werden einige Untersuchungsergebnisse bei Rahm, Butter und Käse mitgeteilt. Speziell wird auch eingegangen auf verschiedene Umstände, die zu Störungen führen können, sowie auf die Zusammenhänge zwischen Erhitzungszeit und -temperatur und Abtötung der Phosphatase.

### Anhang

#### Die Phosphatasereaktion nach Sanders und Sager<sup>8)</sup>

1. *Barium-borat-Puffer:* 25 g chemisch-reines Bariumhydroxyd ( $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) mit dest. Wasser auf 500 cm<sup>3</sup> verdünnt. 11,0 g Borsäure ebenfalls zu 500 cm<sup>3</sup> verdünnt und die 50° C warmen Lösungen gemischt, abgekühlt und filtriert. Gut verschlossen aufbewahren.
2. *Substratpuffer:* 1 g Dinatriumphenylphosphat gelöst in 9 cm<sup>3</sup> Farbentwicklungsbuffer, dazu einige Tropfen Dibromchinonchlorimidlösung. Entwickeln lassen der Färbung (vom freien Phenol herrührend) während 30 Minuten bei Zimmertemperatur, dann Ausschütteln mit 5 cm<sup>3</sup> Butylalkohol. Die nun phenolfreie Dinatriumphenylphosphatlösung wird zu 1 Liter Bariumboratpuffer gegeben (oder 1 cm<sup>3</sup> zu 100 cm<sup>3</sup> Barium-borat-Puffer). Aufbewahren im Kühlschrank.
3. *Farbentwicklungsbuffer:* 6,0 g Natrium-metaborat und 20,0 g Natriumchlorid werden zu einem Liter in dest. Wasser gelöst.
4. *Fällungsmittel:* Für Milch werden 3,0 g Zinksulfat ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) und 0,6 g Kupfersulfat ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) in 100 cm<sup>3</sup> dest. Wasser gelöst. Für reifen Käse wird eine Lösung von 6,0 g Zinksulfat in 100 cm<sup>3</sup> Wasser benutzt, für jungen Käse eine solche, die außer 6,0 g Zinksulfat noch 0,1 g Kupfersulfat enthält.
5. *Dibromchinonchlorimid:* 40 mg Substanz werden gelöst in 10 cm<sup>3</sup> Methyl- oder Äthylalkohol (nicht erwärmen) und in einer dunklen Tropfflasche in der Kälte aufbewahrt. Die Lösung muss stets noch reingelb sein.
6. *Phenol-Standard:* Reines Phenol wird in Wasser mit 10 % Farbentwicklungsbuffer gelöst und passende Verdünnungen (z.B. 1—25 γ pro 10 cm<sup>3</sup>) in Farbentwicklungsbuffer mit 2 Tropfen Dibromchinonchlorimidlösung versetzt und colorimetriert.

- a) *Untersuchung von Milch:* 1 cm<sup>3</sup> Milch wird versetzt mit 8 cm<sup>3</sup> eines 1 : 1 mit Wasser verdünnten Substratpuffers. Im Wasserbad wird auf 38° C aufgewärmt und 1 Stunde bei dieser Temperatur gehalten. Dann Verbringen in ein siedendes Wasserbad und darin belassen, bis die Temperatur 90° C beträgt. Abkühlen und Versetzen mit 1 cm<sup>3</sup> Zink-Kupfer-Fällungsmittel für Milch, Mischen, Filtrieren. Das wasserklare Filtrat wird mit Farbentwicklungsbuffer versetzt (bei richtig pasteurisierter Milch 5,0 cm<sup>3</sup> Filtrat + 5 cm<sup>3</sup> Farbentwicklungsbuffer, bei unpasteurisierter Milch müssen viel kleinere Mengen Filtrat genommen werden, z.B. 0,025 cm<sup>3</sup> + 9,975 Farbentwicklungsbuffer). Zu der Mischung kommen einige Tropfen Dibromchinonchlorimidlösung, worauf man die Färbung während zirka 30 Minuten bei Zimmertemperatur entwickeln lässt. Colorimetrieren. (Da stets eine Kontrolle nur aus Farbentwicklungsbuffer und Reagens angesetzt werden muss, um Nebenfärbungen zu kompensieren, wird zweckmässig stets die gleiche Zahl Tropfen Dibromchinonchlorimidlösung genommen, zum Beispiel stets 2 Tropfen. Dies verlangt ebenfalls die Ansetzung von Verdünnungen, da bei Phenolmengen oberhalb 20 γ pro 10 cm<sup>3</sup> 2 Tropfen nicht mehr genügen für eine maximale Reaktion.)
- b) *Untersuchung von Käse:* 0,5 g Käse (aus dem Innern entnommen) wird zerrieben mit 9 cm<sup>3</sup> Substratpuffer (unverdünnt), eine Stunde bei 38° C gehalten und daran anschliessend im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen Zugabe von 1,0 cm<sup>3</sup> Fällungsreagens (bei reifem Käse nur Zinksulfat, bei unreifem Käse Zink-Kupfersulfat-(6,0+0,1)-Lösung). Nach der Filtration wird das klare Filtrat wiederum mit Farbentwicklungsbuffer versetzt und passende Verdünnungen hergestellt. Zugabe von 2 Tropfen Dibromchinonchlorimidlösung, Entwickeln der Blaufärbung, Colorimetrieren.
- c) *Untersuchung anderer Milchprodukte:* Diese erfolgt entsprechend den bisherigen Angaben, wobei darauf gesehen wird, dass das Verhältnis Substanz : Substratpuffer so ist, dass der optimale pH für die Phosphatasewirkung ( $10,0 \pm 0,15$ ) erhalten bleibt und bei der Fällung mit dem Eiweissfällungsmittel ein klares Filtrat erhalten wird.
- d) *Allgemeine Grundsätze:* Es müssen stets Kontrollen angesetzt werden; bei Milch z.B. muss die zu untersuchende Milch noch selber pasteurisiert werden. Ebenfalls Kontrollen mit Farbentwicklungsbuffer und Reagens ohne Filtrat. Natürlich kann auch die entstandene Färbung mit Butylalkohol ausgezogen werden, wie dies andere Methoden vorschreiben<sup>18)</sup>. Verschimmelte oder sonst offensichtlich mikrobiell veränderte Proben geben keine sicheren Resultate. Das Dibromchinonchlorimid sollte nur in Form möglichst frischer Lösungen verwendet werden, und der Substratpuffer ist vor der Einwirkung von Kohlendioxyd möglichst zu schützen. Die Dibromchinonchlorimidlösung und der Substratpuffer sind im Kühlschrank aufzubewahren.

## Literatur

- 1) Bouma und van Dam: Biochemische Zeitschrift **92**, 385—96 (1918).  
S. Orla-Jensen: Z.U.L. **63**, 300—308 (1932).  
Cl. Zäch: Mittlg. Leb. Unters. Hygiene **25**, 87—100 (1934).
- 2) S. Rothenfusser: Z.U.L. **60**, 94—108 (1930).  
S. Orla-Jensen: Z.U.L. **63**, 300—308 (1932).  
Cl. Zäch: Mittlg. Leb. Unters. Hygiene **25**, 87—100 (1934).
- 3) S. Orla-Jensen: Lait **9**, 622—48, 724—40, 816—31, 914—27, 1032—46 (1930).  
S. Orla-Jensen: Z.U.L. **63**, 300—308 (1932).  
J. E. Jacobsen: Z.U.L. **71**, 515—21 (1936).
- 4) H. D. Kay und W. R. Graham jr.: J. Dairy Research **5**, 191—203 (1935).
- 5) G. P. Sanders: Food Industries **20**, 26—31, 144, 146 (1948).  
O. F. Fischer: Deutsche Molkereizeitung **1942**, Nr. 34.
- 6) Th. Smith: J. exper. Med. **4**, 217—33 (1899).  
North und Park: Amer. J. Hyg. **7**, 147 (1927).  
A. T. R. Mattick und E. R. Hiscox: Med. Officer **1939**, Nr. 6.  
E. R. Hiscox: J. Soc. Chem. Ind. **63**, 298—303 (1944).
- 7) Dahlberg: New York Agr. Exp. Sta. Techn. Bull **1932**, Nr. 203.  
E. R. Hiscox: J. Soc. Chem. Ind. **63**, 298—303 (1944).
- 8) G. P. Sanders und O. S. Sager: J. Dairy Science **29**, 737—49 (1946), **30**, 909—20; J. Milk and Food Technology **11**, Nr. 2 (1948).  
G. P. Sanders: J. Assoc. off. agr. Chemists **31**, 306—18 (1948).
- 9) W. J. Wiley, F. S. J. Newman und H. R. Whitehead: J. Council Scient. Industr. Research New Zealand **14** (1941), Ref. Lait **28**, 188 (1948).  
W. H. Brown: J. Dairy Science **23**, 510—11 (1940).
- 10) W. Ritter und Ths. Nussbaumer: Schweiz. Milchztg. **1939**, Nr. 54—55.
- 11) F. K. Neave: J. Dairy Research **10**, 475—84 (1939).  
T. C. Buck jr.: Amer. J. Publ. Health. **32**, 1224—36 (1942).  
E. Kaplan: J. Assoc. off. agric. Chemists **30**, 422—30 (1947).  
F. W. Barber und W. C. Frazier: J. Dairy Science **26**, 343—52 (1943).
- 12) B. W. Hammer und H. C. Olson: J. Milk Technology **4**, 83—85 (1941).  
G. P. Sanders und O. S. Sager: J. Dairy Science **30**, 517 (1947).  
R. P. Tittsler, O. S. Sager und G. P. Sanders: J. Dairy Science (im Erscheinen).
- 13) Holland und Dahlberg: New York Agr. Exp. Sta. Techn. Bull. Nr. 254 (1940).
- 14) Prucha und Corbett: J. Milk Technology **3**, 269 (1940).
- 15) Cl. Zäch: Mittlg. Leb. Unters. Hyg. **25**, 87—100 (1934).
- 16) G. P. Sanders und O. S. Sager: J. Dairy Science **30**, 518 (1947).
- 17) H. Jensen, K. P. Andersen, A. M. Madsen, G. Wittig und H. Faxholm: 57. Beretning fra Statens Forsøgsmejeri: Fosfataseenzymes Varmedestruktion. (Hillerød 1948, S. 1—63) (1948).
- 18) A. C. Andersen und H. Vestesen: 210. Beretning fra Forsøgslaboriet (1944).  
A. C. Andersen: Mittlg. Leb. Unters. Hygiene **39**, 65—70 (1948).

En complément des deux dernières communications, M. le Prof. Högl nous donne connaissance des expériences faites au Service fédéral de l'hygiène publique avec la réaction de la phosphatase.

Le président nous informe encore que M. le Dr. J. Hux, Zoug, est devenu membre libre de notre société.

En ce qui concerne le lieu de la prochaine assemblée annuelle, personne ne faisant de proposition, le Président nous invite à Bâle pour 1949, proposition qui est acceptée par acclamation. Puis il lève la séance à 10 h. 50.

Il est 11 h. 15 quand quatre autocars démarrent pour emmener quelque 110 membres et invités aux Plans-Mayens s/Crans. Jusqu'à Granges, c'est le splendide vignoble qui se déroule devant nos yeux, puis la route grimpe par de nombreux lacets jusqu'au superbe plateau de Montana-Crans. Aux Plans-Mayens, un coquet petit restaurant en forme de rotonde nous accueille. Tout en dégustant différents crus valaisans, en guise d'apéritifs, nous admirons un panorama grandiose, depuis le Bietschhorn jusqu'au Grand Combin. Malheureusement, le ciel est légèrement couvert, de sorte qu'il faut deviner la majestueuse silhouette du Weisshorn vis-à-vis de nous.

Fendant, Johannisberg, Malvoisie, Amigne, etc., ayant sérieusement creusé l'estomac, les cars reprennent le chemin pour Crans, où un savoureux dîner nous attend à l'Hôtel Golf et Sports.

En des termes émouvants, M. le Prof. *Krauze* de Varsovie tient à exprimer à la Suisse et à ses collègues ses plus vifs remerciements pour l'aide apportée à la Pologne durant les dures épreuves de la dernière guerre mondiale. Puis il invite les délégués des différents pays à fonder une société internationale des chimistes pour l'analyse des denrées alimentaires. Les premières bases de cette future société sont alors discutées lors d'une brève réunion.

Le Prof. *Bornand*, en faisant allusion à la ravissante flore alpine qui décore au printemps ce site enchanteur qu'est Crans, remercie chaleureusement les épouses qui veulent bien accompagner nos membres et invités en apportant une note de fraîche gaîté dans nos réunions annuelles. Qu'elles nous restent fidèles et quelles disent à leurs sœurs que les absentes ont toujours tort!

Entre la poire et le fromage, notre dynamique président se dépasse lui-même en nous chantant à la «tonkinoise» tout le programme du Congrès, ainsi que les soucis des chimistes analystes. Bravo, président, les applaudissements nourris t'ont prouvé que l'an prochain, à Bâle, tu dois te surpasser en récidivant!

A 15 h. les cars nous redescendent sur Sierre en passant par Montana-Vermala. La société se disloque, les uns prenant la direction du Lötschberg, les autres celle de Lausanne.

Un chaleureux merci à notre collègue et ami *Venetz* qui, par une organisation impeccable, a su associer au sérieux de notre science l'attrait des richesses de son pays, tant au point de vue touristique que gustatif.

Nos remerciements non moins chaleureux vont également aux différents donateurs, soit le Gouvernement valaisan, les directions des Usines de la Lonza (Viège), de la Ciba (Monthey) et de la Société pour l'industrie de l'aluminium (Chippis) qui, par leurs gestes extrêmement généreux, ont permis à notre société d'organiser ce congrès de 1948 qui restera certes inoubliable dans le cœur des participants.

Le secrétaire ad. int.: *F. Achermann*