

*Hommage du Directeur de l'École
professionnelle de pêche*

Eigenaar van de
Boekhandel
H. J. J. J. J.
Brugge



P41

TRAVAUX
DE
LA STATION DE RECHERCHES
RELATIVES
A LA PÊCHE MARITIME
A OSTENDE.

FASCICULE I.



ROULERS & BRUXELLES
JULES DE MEESTER, IMPRIMEUR-ÉDITEUR.

1903

AVANT-PROPOS.

Nous réunissons dans cette publication les travaux du laboratoire de la station de recherches relatives à la pêche maritime à Ostende. Ils ont été exécutés pendant les années 1901 et 1902 par le Chef du laboratoire et quelques collaborateurs. Ils sont relatifs à la chimie des huiles, la préparation et la falsification des conserves de poissons et l'étude microbiologique de la vase marine. Ce sont les premiers résultats des études que nous avons entreprises.

Ostende, janvier 1903.

M. HENSEVAL.

ÉTUDE SUR L'INSAPONIFIABLE

DES

HUILES ET DES GRAISSES

PAR J. HUWART.

23602

INGÉNIEUR AGRICOLE,

CHIMISTE A LA STATION DE RECHERCHES MARITIMES D'OSTENDE.

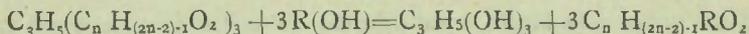
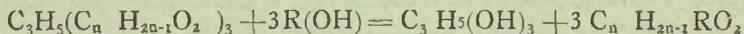
On sait que les corps gras sont des mélanges de glycérides, c'est-à-dire de combinaisons de glycérine et d'acides gras solides ou liquides, fixes ou volatils. En général, ce sont exclusivement des triglycérides qui entrent dans la composition des matières grasses.

Les huiles sont constituées en majeure partie de glycérides d'acides gras fixes et insolubles, c'est-à-dire, par exemple

de trioléine $C_3 H_5 (C_{18} H_{33} O_2)_3$,de tripalmitine $C_3 H_5 (C_{16} H_{31} O_2)_3$ de tristéarine $C_3 H_5 (C_{18} H_{35} O_2)_3$

et parmi ces trois composés, c'est la trioléine qui domine dans les huiles et les maintient à l'état liquide. Dans celles de poisson, il existe encore d'autres glycérides liquides, dont la constitution n'est pas connue. Quant aux glycérides d'acides gras volatils, on ne les rencontre généralement dans les huiles qu'en proportion variant de 1,8 à 4,5 %.

Tous les glycérides ont la propriété de se décomposer sous l'action des bases fortes pour donner naissance aux sels des acides gras correspondants, c'est-à-dire les savons, en abandonnant la glycérine à l'état libre. Les transformations se font d'après les formules suivantes :



Mais à côté de ces corps qui se combinent aux bases fortes, on a remarqué la présence d'une minime quantité de substance qui reste inattaquable, qui ne se transforme donc pas en savon, mais

qui est en outre soluble dans l'huile même et accompagne celle-ci dans tous ses dissolvants. Cette fraction a reçu la dénomination générale de *substance insaponifiable*.

On sait déjà qu'elle renferme toujours de la *cholestérine*, s'il s'agit de matière grasse animale, ou de la *phytostérine*, si l'on a affaire à des corps gras d'origine végétale.

Pendant on est loin d'avoir identifié les composés variables que la fraction insaponifiable renferme. Les chimistes ne se sont guère préoccupés jusqu'à présent de cette partie, parce qu'elle existe en proportion minime dans les matières grasses, et aussi parce qu'il n'y a pas de bonne méthode pour l'extraire et la doser.

On n'avait jusqu'ici envisagé cette détermination que pour découvrir les falsifications des huiles végétales ou animales par les huiles minérales. Mais la question n'avait guère été étudiée au point de vue scientifique.

Quoique les matières insaponifiables n'existent qu'en très faible quantité dans les corps gras naturels, on ne peut pas se désintéresser de leur présence. Elles sont capables de jouer un rôle plus ou moins important dans les huiles médicinales de même que dans les autres huiles et les graisses comestibles ou destinées à des usages industriels ; ou bien elles peuvent produire certaines réactions dont la cause est encore mal connue et que les chimistes exécutent sur les corps gras en vue de les reconnaître et les identifier. La fraction non saponifiable intervient sûrement dans les *réactions dites de coloration*. Un exemple nous a été révélé par M.M. Villavecchia et Fabris dans leur étude sur l'huile de Sésame. Ces expérimentateurs ont isolé de l'insaponifiable, extrait de l'huile précitée, trois substances distinctes : la phytostérine, la sésamine et un corps qu'ils appellent « l'huile rouge. » En traitant les matières insaponifiables par une petite quantité d'éther, on a isolé la sésamine, grâce à la faible solubilité de ce corps dans le dissolvant considéré ; la phytostérine fut isolée par cristallisations répétées ; et l'on put obtenir enfin l'« huile rouge », qui donne la réaction rouge caractéristique avec l'HCl furfurolé (épreuve de Baudouin).

Enfin il est utile d'isoler et d'examiner l'insaponifiable pour la recherche de l'huile végétale dans l'huile de foie de morue, la recherche de l'huile de coton dans la graisse de porc, et pour déceler la présence de petites quantités de beurre végétal ou de margarine dans le beurre naturel.

Les diverses considérations qui précèdent nous ont engagé à porter spécialement notre attention sur l'insaponifiable des corps gras, pour en étudier la composition, la richesse en cholestérine, et son rôle vis-à-vis des réactions qu'on exécute couramment.

Nous avons commencé ce travail sur les huiles de poissons, continuant ainsi la série des études qui furent entreprises à Ostende sur les matières grasses de même origine.

CHAPITRE I.

LES MÉTHODES DE DOSAGE EMPLOYÉES.

Les procédés de dosage en question reposent tous sur la propriété suivante : la *solubilité* des matières insaponifiables dans certains dissolvants, tels que l'éther ordinaire, l'éther de pétrole le tétrachlorure de carbone, le chloroforme, par rapport aux savons qui, théoriquement, sont uniquement solubles dans l'eau et dans l'alcool étendu.

Il est utile de remarquer dès à présent qu'en pratique l'analyse n'est pas aussi simple qu'elle le paraît. On verra, par l'étude des diverses méthodes, que pour réussir à séparer totalement l'insaponifiable des graisses, il faut observer certaines conditions relatives à la proportion des réactifs à employer et à la dessiccation de la substance, dont dépend tout le succès de l'opération.

On peut **diviser les méthodes connues en 2 catégories** :

- 1) Les unes consistent à extraire les matières insaponifiables dans les savons desséchés.
- 2) Les autres s'appliquent sur la solution aqueuse alcoolique des savons.

Première catégorie : traitement du savon sec.

1) **Méthode d'Allen et Thomson.**

Celle-ci fut une des premières en usage. Elle consiste à saponifier 25 gr^s. de mat. grasse dans 50 cc. de KOH, en solution alcoolique à 20 %, dans un ballon surmonté d'un tube condenseur. Après neutralisation presque complète de l'excès de potasse, on évapore l'alcool au bain-marie. Il est avantageux de verser plusieurs fois de l'alcool méthylique sur les savons, afin d'accélérer l'évaporation de l'eau. Chaque fois qu'on ajoute de l'alcool méthylique, on introduit également une certaine quantité de carbonate de soude et de sable pur. Finalement, on dessèche toute la masse à l'étuve, à 100-105°.

INCONVÉNIENTS : a) La masse de substance traitée est trop grande pour permettre d'arriver à une dessiccation parfaite ; la glycérine empâte le savon et empêche ultérieurement la pénétration de l'éther.

b) Il est difficile d'extraire toute la masse en une seule opération par suite également de son trop grand volume.

c) La dessiccation étant nécessairement longue, les savons s'altèrent à l'étuve et ils se décomposent en partie, grâce à une oxydation énergique.

d) L'extraction par l'éther est très longue et malgré cela toujours incomplète.

e) Enfin pendant l'épuisement par l'éther ordinaire, il y a toujours entraînement de savons. Ce phénomène est attribuable à l'imperfection de la dessiccation, car en présence d'eau l'éther ordinaire dissout toujours une petite quantité de savons. Nous avons obtenu, par exemple, pour un échantillon d'huile, 1.60 gr. d'insaponifiable pour 100, alors que la teneur réelle était 1,43 %.

2°) **Méthode de Ritter** (Chemiker-Zeitung, 1901).

On verse 50 gr. de matière grasse dans une large capsule et on y ajoute 100 cc. d'alcool. Le mélange est chauffé au bain-marie et saponifié avec une solution d'alcoolate de sodium.

Il faut préparer ce réactif de la manière suivante : à 100 cc. d'alcool à 99°, on ajoute 8 gr^s. de sodium ; la liqueur s'échauffe et s'évapore plus ou moins pendant l'attaque par le sodium ; il faudra donc la ramener au volume primitif, quand l'opération sera terminée. Un tube condenseur posé sur le flacon contribue beaucoup à diminuer l'évaporation de l'alcool.

L'alcoolate versé chaud dans la solution de matière grasse produit une saponification presque instantanée ; on remue la masse jusqu'à complète évaporation de l'alcool. Ritter introduit alors dans la capsule du NaCl pur dans la proportion d'une fois et demie le volume de la matière traitée et ajoute de l'eau jusqu'à ce que la majeure partie des substances rentrent en solution, ce qui est nécessaire pour donner un mélange parfait et homogène.

L'évaporation de l'eau commence alors sur une petite flamme Bunsen et se poursuit au bain-marie, puis à l'étuve à 80°. On pulvérise la substance au fur et à mesure que l'état de siccité le permet. L'extraction se fait dans un appareil de Soxhlet et dure environ 9 heures.

INCONVÉNIENTS : *a*) Le volume traité est trop considérable pour permettre l'extraction en une seule opération ; celle-ci est donc trop longue.

b) L'emploi de l'alcool à 99° et du sodium pur est relativement coûteux.

c) La soude saponifie moins énergiquement que la potasse et, vu l'énorme volume de substance, il est douteux que la saponification soit parfaite.

d) L'évaporation de l'eau dure plusieurs heures et, pour qu'elle soit régulière, il faut remuer constamment la masse liquide ; bref, c'est une opération incommode.

e) L'extraction est incomplète ainsi qu'il ressort de l'exemple suivant. Nous avons opéré sur 10 gr^{rs} d'huile d'esprot et avons obtenu après 15 heures d'extraction :

1 ^r essai	0,80	insaponifiable pour 100
2 ^e »	0,756	» »

Les matières extraites avaient l'aspect brun ordinaire et ne laissaient aucun résidu à la calcination. L'insaponifiable est donc pur, mais l'épuisement est incomplet, attendu que la même huile traitée selon la méthode précise décrite plus loin révèle 1,08% de mat. insap.

REMARQUE. Les modifications suivantes abrègent considérablement la durée des opérations. Nous saponifions l'huile, chauffée préalablement sur le bain-marie, avec 25 g^{rs} de soude caustique dissous dans très peu d'eau et 50 cc. d'alcool à 94° : l'opération dure 5 minutes. La masse pâteuse est redissoute par une nouvelle addition de 50 cc. d'alcool et, à ce moment, nous ajoutons le chlorure de sodium, qui forme bientôt avec le tout un mélange homogène. L'alcool s'évapore rapidement et on arrive à obtenir ainsi en quelques heures une masse sèche, pulvérulente et très friable. Malgré cette modification avantageuse, l'épuisement par l'éther reste incomplet.

Deuxième catégorie : traitement du savon liquide.

1) Méthode de Bull.

Ce chimiste saponifie 5 g^{rs} d'huile avec 10 cc. de potasse en solution alcoolique, dans un ballon muni d'un tube réfrigérant. Il transvase ensuite le savon dans une éprouvette graduée et ajoute : 35 cc. d'eau, 15 cc. de glycérine concentrée (D. 1,26) et 50 cc. d'éther sulfurique. On soumet le liquide à une vive agitation, ensuite on l'abandonne au repos. Quand la couche d'éther est nettement séparée, on note le volume qu'elle occupe. On en pipette environ 25 cc. et l'on fait une deuxième lecture pour établir par différence la quantité prélevée. Cette partie est évaporée lentement et le résidu est pesé.

AVANTAGE : La méthode de Bull est d'exécution rapide entre les mains d'un opérateur très habile et donne d'assez bons résultats.

INCONVÉNIENTS. a) Il est difficile de pipetter un volume exact de la solution étherée à cause de la mobilité et de la volatilité du liquide. Il arrive que l'éther aspiré retombe en partie dans

la burette et trouble la couche qui y reste, ce qui force à attendre avant de faire la nouvelle lecture.

b) La lecture devant se faire sur une éprouvette graduée, on commet facilement une petite erreur, laquelle se traduit par une différence assez notable dans la richesse en insaponifiable, quand l'analyse est faite en double.

Exemples prouvant que les résultats obtenus par cette méthode sont assez variables :

1) a/ Opérant sur une huile de poisson, nous avons pipeté un certain volume de solution éthérée, qui nous a révélé une teneur en insaponifiable de 0,809 % ;

b/ 25 cc. prélevés dans la même solution, après repos complet, donnent 0,56 %.

La différence est bien notable.

2) Autre échantillon d'huile $\left\{ \begin{array}{l} a/ 1,46 \% \\ b/ 1,17 \% \end{array} \right.$

Il est à remarquer que les deux chiffres du premier exemple furent obtenus par la méthode de Bull non modifiée.

Pour le deuxième exemple, nous avons neutralisé l'excès de potasse, après saponification, avec HCl normal. Nous avons toujours observé qu'en ce cas la séparation des couches se faisait plus rapidement. Nous constatons aussi qu'un grand excès d'alcali rend l'extraction moins complète. •

c/ L'expérience nous a démontré qu'un seul épuisement avec 50 cc. d'éther est insuffisant.

Exemples : un échantillon d'huile d'esprot a fourni :

après une seule extraction 0,876 %

après deux extractions avec 50 cc. d'éther chacune $\left\{ \begin{array}{l} 1,174 \% \\ 1,194 \% \end{array} \right.$

d) Il y a toujours entraînement de savons ; l'expérience suivante le prouvera.

La matière insaponifiable reprise par l'éther anhydre ne se dissout pas totalement ; il subsiste un dépôt pâteux, insoluble dans l'éther anhydre, soluble dans l'eau. Cette solution aqueuse évapo-

rée et calcinée donne un poids de cendres égal à 1,93 pour 100 d'insaponifiable.

Le produit de la calcination se dissout dans l'eau et révèle une réaction alcaline. Titrée avec $\text{HCl}_{\frac{n}{20}}$, la solution atteste une dose de 1,41 gr. KOH pour 100 d'insaponifiable.

Il s'agit donc d'un réel entraînement de savons.

2) Méthode de P. Neff.

Cet auteur applique principalement sa méthode au dosage des hydrocarbures contenus dans l'oléine commerciale. 10 g^{rs} de corps gras sont saponifiés au moyen de 5 g^{rs} de KOH dissous dans 75 cc. d'alcool à 94°. Après saponification, on neutralise l'excès de potasse, transvase dans une boule à décantation et on réalise l'extraction avec 50 cc. d'éther de pétrole exactement mesurés. L'éther employé doit avoir un point d'ébullition inférieur à 80° et ne laisser, naturellement, aucun résidu à l'évaporation.

Après agitation vigoureuse, si la séparation des couches n'avait pas lieu immédiatement, on la provoquerait, dit l'auteur de la méthode, en ajoutant quelques gouttes d'alcool.

La couche aqueuse alcoolique est éliminée et, après repos suffisant, on prélève 25 cc. de la solution éthérolée pour les évaporer. Le poids du résidu, séché à 100°, doit être multiplié par 20 pour établir la teneur en insaponifiable.

INCONVÉNIENTS. a) L'extraction n'est pas complète, ce qui est dû sans doute à ce que l'éther de pétrole se mélange mal aux savons et s'en sépare trop rapidement.

Exemple : 1) Huile d'esprot dosant 1.33 % ins.

trouvé $\left\{ \begin{array}{l} 0,34 \% \\ 0,30 \% \end{array} \right.$

2°) Nous avons ajouté à 10 gr. de l'huile précitée de la cholestérine pure, savoir :

	1 ^{er} essai	2 ^e essai
Cholestérine	0,0613	0,1191
Insaponifiable préexistant . .	0,1334	0,1334
Total des mat. insaponifiables	0,1947	0,2525 gr.
Substances retrouvées :	0,0534	0,0523

REMARQUES. Nous avons employé 75 cc. d'éther de pétrole comme dissolvant et avons renouvelé 5-6 fois l'agitation des liquides dans la boule à décantation.

Bien que l'épuisement soit très imparfait, il faut admettre que les deux résultats sont concordants : une même quantité d'éther de pétrole dissout ainsi, dans les mêmes circonstances de temps et d'agitation, une quantité constante d'insaponifiable, quelle qu'en soit la proportion contenue dans le mélange.

Il est à présumer qu'on obtiendrait des chiffres se rapprochant de la réalité, si l'on faisait un assez grand nombre d'extractions successives. Mais l'opération deviendrait trop longue.

b) Il y a entraînement de savons, phénomène qui se manifeste par la présence de substances fixes dans l'insaponifiable. D'après nos expériences, le résidu calciné possédait une alcalinité qui, calculée en K_2O , s'élevait à 1.98 pour 100 de matières extraites.

3) Méthode de Fahrion.

Cet auteur met aussi à profit la solubilité des substances insaponifiables dans l'éther de pétrole léger (P. E. inférieur à 80°). Une particularité digne d'être signalée est la saponification à froid préconisée par Henriques et que Fahrion applique de la manière suivante :

3 à 4 grs de matière grasse sont dissous dans 25 cc. d'éther de pétrole et additionnés d'environ 25 cc. de lessive alcoolique sensiblement normale ; le tout est abandonné au repos pendant une nuit. Le lendemain, on neutralise l'excès de potasse avec une solution acide $\frac{n}{2}$ et l'on calcule ainsi l'indice de saponification.

La solution de savon est traitée par l'éther de pétrole, qu'il faut ajouter en plusieurs fois par petites portions de 20 à 30 cc. Chacune des solutions éthérées doit être lavée avec 10 cc. d'alcool à 50° - 60° ; les liquides de lavage vont rejoindre la solution aqueuse alcoolique de savon. On répète l'extraction, écrit l'auteur de la méthode, jusqu'à ce que l'éther de pétrole ne laisse plus à l'évaporation le moindre résidu (Moniteur Sc. Quesneville, 1899, XIII, 61).

INCONVÉNIENTS. a) L'extraction est incomplète, bien qu'on exécute 6 à 10 épauements successifs.

Preuve : nous avons saponifié à froid 4-5 gr. d'huile d'esprot. Cette opération réussit aussi bien qu'à chaud, pourvu que le contact de la potasse dure au moins 15 heures.

Résultats :	indice de saponification.	Insaponifiable.
a)	188,4	1,23
b)	187,0	1,47

L'huile analysée renferme réellement 1,36 % insaponifiable exempt de cendres.

L'exemple ci-dessus révèle 1,47 % dans le second cas : ce chiffre est trop élevé, car la masse extraite était impure et laissait un résidu à la calcination. Le chiffre 1,23 se rapporte à une substance pure et prouve que l'extraction est incomplète.

b) L'extrait sec ne se dissout pas entièrement dans l'éther sulfurique anhydre. La partie insoluble est constituée par des particules solides et des savons entraînés ; elle laisse un résidu à la calcination. On trouve souvent des impuretés de diverse nature dans l'extrait d'éther de pétrole, parce qu'un seul lavage avec 10 cc. d'alcool à 50-60° est insuffisant pour le purifier. Enfin, il résulte de nos expériences qu'on peut obtenir un extrait plus pur en filtrant chaque solution d'éther de pétrole.

4) Méthode de Bömer.

Le procédé suivant est indiqué pour extraire rapidement une grande quantité d'insaponifiable. On traite 50 grs de matière grasse par 100 cc. de KOH en solution alcoolique à 20 %. Après saponification, on y introduit 200 cc. d'eau et 500 cc. d'éther sulfurique ; on agite et laisse en repos. Il faut extraire une, deux et même trois fois avec 200-250 cc. d'éther pour chaque traitement.

Les résidus éthérés, réunis, sont saponifiés une seconde fois, et puis traités par 20 cc. d'eau et 80-100 cc. d'éther.

Finalement, on lave la solution éthérée, 3 à 5 fois, avec 5-10 cc. d'eau ; on la filtre, évapore, sèche et pèse.

Le même procédé appliqué à 10 gr. de matière grasse comporte, l'emploi de :

- 20 cc. de KOH alcoolique à 20 %
- 40 cc. d'eau après saponification
- 100 cc. d'éther pour la 1^{ère} extraction.
- 50 » 2^e
- 50 » 3^e

Une seconde saponification est aussi indiquée par prudence. (Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs-und Genussmittel, Heft I, 1889, S. 38, et Heft 8, 1898, S. 545.)

AVANTAGE. Comme procédé d'analyse qualitative c'est le meilleur, parce qu'il est le plus rapide.

INCONVÉNIENTS. a) Il faut employer de trop grandes quantités d'alcool et surtout d'éther, réactif qu'on doit toujours manier avec beaucoup de précautions.

On peut récupérer une bonne partie du dissolvant ; néanmoins on en perd des quantités variables par évaporation et il en reste un notable volume dans la solution alcoolique aqueuse des savons. Quant à l'éther récupéré, il est utile de l'agiter avec un peu d'eau pour le débarrasser des traces d'alcool qu'il renferme.

b) La séparation des couches ne se réalise pas convenablement dans toutes les circonstances. La proportion de potasse libre joue un rôle en ce cas et celle-ci dépend de l'indice de saponification de la graisse. Si l'éther et l'alcool forment une couche homogène, on les sépare en y ajoutant des quantités d'eau variables.

c) Cette méthode n'évite pas l'entraînement des savons dans l'éther : au point de vue de l'analyse quantitative, elle donne donc des chiffres trop élevés.

5) Méthode de Schukoff.

Elle consiste à saponifier 5^{grs} de mat. grasse avec 25 cc. d'une solution alcoolique de soude caustique.

On évapore ensuite l'alcool et reprend le savon par 80 cc. d'eau chaude. Le traitement par l'éther comprend trois extractions successives au moyen de 80 cc. d'éther chaque fois. Si, après repos, la

séparation ne se produit pas normalement, l'auteur conseille d'ajouter quelques gouttes d'alcool fort, sans remuer le liquide.

Le volume des extraits étherés est réduit à quelques centim. cub., alcalinisé et évaporé jusqu'à siccité. Le résidu séché sur le bain-marie est repris par l'éther de pétrole ; la solution est filtrée, puis évaporée dans un vase taré.

REPROCHES. a) La séparation de l'éther ne se fait pas toujours rapidement ; et par l'addition de quelques gouttes d'alcool, on ne parvient pas chaque fois à obtenir une solution étherée claire et transparente.

b) L'éther en présence d'une solution aqueuse de savon dissout une petite quantité de *savons acides*.

c) L'évaporation au bain-marie est insuffisante pour fournir une masse exempte d'eau. Quand on reprend la substance par l'éther de pétrole, on obtient un liquide trouble qui ne s'éclaircit pas malgré la filtration. Ce sont les savons et la glycérine entraînés avec l'eau non éliminée qui causent ce trouble dans la solution.

d) L'éther de pétrole entraîne une partie de la substance lors de l'évaporation lente sur le bain-marie.

Cette perte est sensible dans la grande majorité des cas et elle se produit toujours quelle que soit la forme du vase employé.

e) Il faut employer un trop grand volume d'éther, quand on fait une analyse en double.

f) Cette méthode n'est pas applicable au dosage de l'insaponifiable des *cires*, car l'alcool myricilique, contenu dans ces substances, est pour ainsi dire insoluble dans l'éther de pétrole.

6) Méthode de l'auteur.

Nous saponifions 5 grs. d'huile avec 10 cc. d'une solution alcoolique de KOH à 20 %, pendant au moins une 1/2 heure, dans un ballon surmonté d'un tube à reflux.

Cette opération étant achevée, nous neutralisons la plus grande partie de l'excès de potasse avec HCl normal, sans aller jamais jusqu'à la neutralisation exacte.

Le savon liquide encore chaud est transvasé dans une boule à

décantation et le ballon est rincé avec 35 cc. d'eau chaude, en plusieurs fois. Nous ajoutons alors 15 cc. de glycérine pure, concentrée (D. 1.26), mélangeons le tout en imprimant une légère agitation à la boule et laissons refroidir.

Il est procédé ensuite à une première extraction, au moyen de 50 cc. d'éther. Le liquide doit être vivement agité pendant 1 1/2 à 3 minutes et enfin être laissé en repos. Les parties éthérée et aqueuse se séparent nettement l'une de l'autre. Nous attendons qu'il ne subsiste plus le moindre trouble dans la couche aqueuse, pour éliminer celle-ci par le robinet inférieur. Nous déversons prudemment l'éther par le haut dans un ballon de 300-400 cc. Nous rinçons la boule avec 20-30 cc. d'éther, que nous ajoutons à l'extrait. Une deuxième extraction analogue à la première est nécessaire pour enlever les dernières traces d'insaponifiable. Les extraits éthérés réunis sont distillés lentement au bain-marie, et l'on peut ainsi récupérer environ les 3/4 du dissolvant employé.

Quand le liquide du ballon est réduit au volume de quelques centim. ³, nous y ajoutons 1 seule goutte de phénolphtaléine et quelques gouttes d'une solution *alcoolique* de potasse à 3 % pour alcaliniser franchement le milieu. L'alcali sert à détruire les savons acides et saponifier les traces de corps gras qui auraient échappé au premier traitement. Il est alors nécessaire d'ajouter au liquide quelques grammes de verre finement broyé dans le but d'empêcher ultérieurement la substance de former une masse compacte, laquelle gênerait beaucoup l'action dissolvante de l'éther. Finalement, nous terminons l'évaporation au bain-marie. La substance devenue pâteuse est portée ensuite à l'étuve à 95-100° pendant 2 à 2 1/2 heures, afin qu'elle s'y dessèche complètement.

Le résidu sec et friable est traité indifféremment par 40-50 cc. d'éther sulfurique *anhydre*, ou une plus grande quantité d'éther de pétrole dont le point d'ébullition est inférieur à 80°. Il faut avoir soin de pulvériser la substance et d'agiter convenablement le ballon pour favoriser l'épuisement. La digestion doit durer quelques

heures, ou mieux 12 heures. Après ce laps de temps, on filtre la solution étherée sur un filtre desséché et dégraissé, on rince et lave plusieurs fois le ballon et le filtre avec de nouvelles quantités d'éther. Les liquides réunis dans une capsule de forme haute ou une fiole de Soxhlet tarées sont abandonnés à une évaporation *très lente* sur le bain-marie.

Le résidu doit être séché à 100° jusque poids constant, ce qui s'obtient en 1 $\frac{1}{2}$ à 2 $\frac{1}{2}$ heures.

L'évaporation de l'éther donne lieu à des pertes de substance si la capsule est de forme basse et si le chauffage sur bain-marie devient trop fort. Ces pertes deviennent particulièrement sensibles, quand on se sert de l'éther de pétrole, quelque lente et douce que soit l'évaporation. Pour ces motifs, nous préférons employer l'éther sulfurique qui doit être parfaitement anhydre.

Avantages de la méthode.

1) La neutralisation presque complète de la potasse non combinée aux acides gras favorise la séparation de l'éther et rend l'extraction plus complète. En effet, l'éther dissout plus de savon en milieu fortement alcalin qu'en solution neutre ou faiblement alcaline, et la séparation est par cela même ralentie. En outre, les matières insaponifiables sont moins solubles dans une solution de savon neutre que dans une solution alcalinisée (Fahrion). Les chiffres que nous avons fournis pour la méthode de Bull (voir page 10) sont parfaitement d'accord avec cette manière de voir.

2) La glycérine sert à augmenter la densité de la couche alcoolique aqueuse avec laquelle elle se mélange : elle accélère ainsi la séparation de l'éther.

3) En traitant les savons avec 100 cc. d'éther, en deux opérations, on leur enlève totalement les matières insaponifiables. L'éther employé à une troisième extraction reste incolore et ne laisse plus de résidu à l'évaporation. Mais si deux épuisements suffisent, on n'obtient pas sûrement la totalité de l'insaponifiable dans les 50 cc. de la première extraction, ainsi que le prouvent les résultats suivants :

Huile d'esprot : 1^{ère} extraction 0,876 % insaponifiable.
 2^e extraction 1,174
 3^e extraction 1,173

4) Les résultats obtenus par notre méthode sont constants et concordent dans les limites ordinaires. Voici quelques exemples :

1) échantillon d'huile de Lotta molva (lingue)	{	1.02
		1.07
2) » » Merlangus virens (merlan)	{	0.88
		0.99
3) échantillon d'huile de Lanina carnubica	{	1.66
		1.51
4) » » de Clupea sprattus (esprot)	{	1.362
		1.364
		pure et claire
5) » » idem toncée	{	1.03
		1.11
6) » » d'olive pure	{	0.80
		0.79
7) » » d'olive ayant séjourné dans les	{	0.91
		boîtes de conserve d'esprot.
		0.94
8) échantillon de beurre pur	{	0.33
		0.39
9) » » »	{	0.41
		0.44
10) » margarine (marque Alpha)		0.648 %
11) » margarine pure (marque Albers-Anvers)	{	0.65
		0.58

5) L'extraction n'est pas moins parfaite, dès même qu'il s'agit d'une substance *riche* en insaponifiable. Il est préférable alors d'employer l'éther sulfurique.

Quant à l'alcool myricilique, il se dissout en très petite quantité dans l'éther sulfurique anhydre froid et très mal dans l'éther de pétrole.

Ces conclusions découlent des expériences suivantes :

I. Cholestérine ajoutée à 5 gr. d'huile d'esprot.	0,1003	0,1017
Insaponifiable préexistant (1,36 %)	0,0680	0,0680
Total	0,1683	0,1697
Résidu d'extraction pesé après dessiccation à 100°		
105° pendant 2½ heures	0,1650	0,1690
Différence en moins.	0,0033	0,0003
II. Alcool myricilique ajouté à 5 gr ^s d'huile d'esprot	{ 0,1013 >	{ 0,1048 >
Quantité d'alcool myricili-	{ a) 0,016 — différence — 0,0885 >	{ 0,0885 >
que retrouvée	{ b) 0,0449 — " — 0,0599 >	{ 0,0599 >

Nous pouvons conclure que l'application de cette méthode à l'analyse des **cires** comporte certaines modifications que nous n'avons pas voulu déterminer pour le moment, afin de ne pas sortir du cadre de cette étude.

6) En traitant le résidu complètement desséché par l'éther de pétrole ou l'éther sulfurique, on ne peut donner lieu à l'entraînement de savon. En effet, c'est la présence d'une petite quantité d'eau dans l'éther ordinaire ou dans la substance même, qui provoque la dissolution partielle des savons par l'éther.

Les savons que l'éther dissout en présence d'eau sont des *savons acides*. (1) Ces derniers prennent naissance par dédoublement partiel des savons neutres, sous l'influence de l'eau, en acide gras et en potasse ; l'acide gras se combine par addition à une molécule de savon neutre et constitue un savon acide. La transformation a lieu d'après l'équation :



Des expérimentateurs ont prouvé que les savons acides se dissolvent dans l'éther ordinaire et cette propriété a servi de base à plusieurs brevets industriels.

(1) Arnold s'exprime ainsi dans son « Repetitorium der Chemie : Par addition de beaucoup d'eau, les savons ordinaires se dédoublent partiellement en alcali libre et en sel acide d'acide gras. C'est sur ce phénomène que repose l'action du savon dans le lavage, car l'alcali mis en liberté enlève facilement les souillures et d'autre part les sels acides des acides gras qui se forment ont le pouvoir d'emporter ce qui est gras. »

Ce phénomène doit donner lieu à une partie des erreurs inhérentes aux autres méthodes, d'après lesquelles l'extrait éthéré doit être évaporé, séché et pesé immédiatement.

Nous avons constaté, du reste, que l'extrait éthéré provenant du savon liquide avait toujours une réaction acide.

7) Autres avantages : la quantité d'éther employée n'est pas trop considérable et peut être récupérée. Enfin les manipulations sont peu compliquées et les mêmes dans tous les cas, excepté pour l'analyse des matières cireuses.

8) L'insaponifiable obtenu est réellement pur. Il se dissout entièrement dans l'éther anhydre distillé sur sodium ; et après calcination, il ne laisse aucun résidu, *il est exempt de cendres*.

Quant à la masse sèche non dissoute par l'éther anhydre, reprise par l'eau chaude et acidulée avec HCl, elle permet de reconnaître la présence d'acide gras. Cet essai prouve que des savons furent entraînés par l'éther à la première extraction en présence d'alcool et d'eau.

REMARQUE. L'éther anhydre que nous employons est de l'éther distillé sur sodium fourni par la Maison Kahlbaum, de Berlin, ou bien de l'éther que nous avons purifié par les manipulations suivantes.

Nous mettons l'éther ordinaire en contact avec du Na_2CO_3 déshydraté, pendant 2 ou 3 jours ; comme ce sel cristallise avec 10 aq., il absorbe rapidement l'eau contenue dans l'éther. Nous filtrons et portons l'éther sur du CaCl_2 également desséché. L'éther est enfin décanté dans un ballon à distiller muni d'un thermomètre de précision. Nous distillons doucement au bain-marie en ne recueillant que ce qui passe à 35° . Les fractions qui ont distillé exactement à cette température sont réunies et soumises à deux nouvelles rectifications sur le sodium. Nous obtenons ainsi l'éther anhydre qui est conservé en flacon bien bouché.

CHAPITRE II.

LA NATURE DE L'INSAPONIFIABLE.

A) Méthodes employées pour obtenir de grandes quantités d'insaponifiable.

Nous devons nous procurer une assez grande quantité d'insaponifiable pour nos recherches et dans ce but nous avons eu recours de préférence aux méthodes de Ritter, de Bömer et à la nôtre.

1) Le premier procédé fut appliqué sur 150 gr. d'huile ; les savons secs furent épuisés à l'éther dans un grand extracteur modèle de Soxhlet. Cette méthode est longue, mais elle réclame peu de manipulations.

2) Par la méthode de Bömer, nous pouvions nous procurer d'importantes quantités d'insaponifiable en un temps assez court. Nous avons jugé utile de saponifier une deuxième fois les extraits étherés en opérant comme suit.

L'extrait étheré provenant de 100-150 gr. d'huile est concentré jusqu'au volume de 5-10 cc., et additionné de 10 cc. de potasse en solution alcoolique à 20 % : la saponification dure 1/4 à 1/2 heure. Nous transvasons et ajoutons ensuite 20 cc. d'eau
+ 100 cc. d'éther pour la 1^{ère} extraction.

100	»	2 ^e
50	»	3 ^e
50	»	4 ^e

La séparation est rapide et très nette. Si, par exception, l'éther ne remonte pas immédiatement, nous ajoutons quelques gouttes d'acool à 94°. Si au contraire l'éther et l'acool forment une épaisse couche homogène, nous versons de l'eau jusqu'au moment où l'équilibre du mélange est rompu.

Les extraits réunis sont débarrassés de l'éther et séchés à l'étuve. Mais, par suite du volume de la masse, il est difficile de réaliser une dessiccation parfaite. Nous reprenons donc l'insaponifiable par l'éther de pétrole (P. E. 40-60°), de préférence à l'éther anhydre. On chauffe un peu sur le bain-marie et d'ordinaire la sub-

stance se dissout entièrement. Il arrive que la solution éthérolée reste trouble ; ce phénomène doit être attribué à la présence de savons et de potasse libre entraînés. Celle-ci empêche la filtration, et il faut en ce cas recommencer la séparation par l'éther dans la boule à décantation, en présence d'eau et d'alcool.

Si la solution éthérée est claire, on la filtre sur du papier sec et dégraissé.

Le résidu est séché à 100-105° ; il se présente alors sous l'aspect d'une masse pâteuse, brune, plus ou moins foncée.

3) Notre méthode fut appliquée dans le cas où nous avons voulu obtenir l'insaponifiable pour en déterminer les caractères principaux et la teneur en cholestérine.

B) Les Dissolvants de l'insaponifiable.

L'insaponifiable est faiblement soluble dans l'huile d'où il provient. Cela prouve que cette substance n'y existe pas à l'état de solution saturée, et que la teneur de l'huile en insaponifiable peut varier selon des circonstances diverses. Il est peu soluble également dans l'alcool froid ; soluble dans l'alcool bouillant, l'alcool absolu, l'éther, l'éther de pétrole, le chloroforme, le sulfure et le tétrachlorure de carbone. Il se dissout en petites proportions dans l'essence de thérébentine.

C) Séparation de la Cholestérine.

Nous inspirant des travaux antérieurs, nous avons cherché d'abord à isoler et caractériser la cholestérine dans notre insaponifiable. Les substances de nature cireuse qui accompagnent la cholestérine empêchent celle-ci de cristalliser : il est donc impossible de la caractériser par l'examen microscopique. Notre première préoccupation fut de la *purifier*.

L'insaponifiable brut est d'autant moins riche en cholestérine qu'il est de teinte plus foncée. Nous constatons que les matières colorantes et celles de nature cireuse s'éliminent partiellement, quand nous soumettons l'insaponifiable à 2-3 extractions et dessiccations successives dans une boule à décantation (voir méthode

décrite au § A). L'éther opère une sélection de la cholestérine au détriment des matières colorantes, lesquelles se dissolvent davantage dans la partie alcoolique aqueuse.

Après cette purification préliminaire, il est toujours indispensable de dissoudre la substance dans l'éther de pétrole et la filtrer sur papier sec, pour obtenir un insaponifiable exempt d'eau, d'alcool et de cendres.

Le résidu est alors dissous à chaud dans la moindre quantité possible d'alcool absolu. Cette solution saturée est versée dans un large cristalliseur posé sur le marbre ou toute autre tablette froide. On ajoute quelques gouttes d'eau : il se produit aussitôt un trouble laiteux, abondant. Le cristalliseur reste en repos pendant une heure environ : dans l'intervalle, les cristaux se nourrissent et augmentent de volume. Par filtration sur un double filtre, on obtient une masse blanc-jaunâtre, cristalline, et un liquide plus ou moins trouble. On lave les cristaux avec quelques centim. cub. d'eau ; si la filtration s'arrête, on l'active en faisant un léger vide au moyen de la trompe à eau.

Il nous fut impossible d'obtenir jamais un filtrat clair et transparent, les matières poisseuses rendant le précipité *colloïdal* et par conséquent très difficile à retenir sur le filtre. Nous isolons néanmoins par cette méthode la majeure partie de la cholestérine.

Le précipité est séché à 100-110° : la matière brune fond et imprègne le papier du filtre, tandis que les cristaux restent intacts à la surface. On les détache ensuite avec une spatule en platine et les dissout dans 3-5 cc. d'alcool bouillant. Cette solution saturée est versée dans un cristalliseur et, par refroidissement brusque, elle abandonne de gros cristaux groupés en faisceaux rayonnants ; les premiers formés sont les plus purs.

Par décantation, on élimine les eaux-mères et on essuie les cristaux avec un papier dégraissé et sec (papier Adam) ; on les fait sécher à une douce chaleur (30-33°) et l'on obtient ainsi un résidu blanc mat.

On *purifie la cholestérine* par plusieurs cristallisations successives, jusqu'au moment où le point de fusion du produit reste constant.

D) Caractères des produits obtenus ; identification de la cholestérine.

a) Caractères du produit	point de fusion	état physique	couleur
après 2 ^e cristallisation	141,8° C	cristallin	blanc mat
4 ^e »	146,5	»	blanc à reflets
5 ^e »	146,7	»	»
6 ^e »	146,8	»	»

REMARQUES. Le point de fusion a été déterminé selon le mode opératoire indiqué par Emile Fischer (Anleitung zur Darstellung organischer Präparate. Berlin). Nous utilisons, au lieu d' H_2SO_4 , un bain de glycérine concentrée : celle-ci unit aux avantages de l'emploi de l'acide sulfurique ceux d'être moins dangereux à manier et de transmettre la chaleur avec plus de régularité.

b) Les dissolvants de la cholestérine pure servant de comparaison solubilisent aussi la substance étudiée.

c) Nous avons également *identifié* la cholestérine de l'huile d'esprot par les deux réactions suivantes que M. Schiff indique comme caractéristiques de cette substance (Dict. Würtz).

« 1) Lorsqu'on ajoute à une très petite quantité de cholestérine une goutte de HNO_3 concentré et qu'on évapore à une douce chaleur, on obtient comme résidu une tache jaune, qui se colore en rouge au contact d'une goutte d'ammoniaque.

2) Si on emploie un mélange de 2 à 3 volumes de HCl ou H_2SO_4 avec un volume de perchlorure de fer moyennement étendu et qu'on évapore un peu de ce réactif avec la cholestérine, on obtient un résidu d'une belle couleur violette. Le chlorure d'or, le chlorure de platine et la solution de bichromate de potasse dans HCl donnent lieu à la même coloration. »

Le perchlorure employé comme réactif est la dissolution de cette substance dans 10 fois son poids d'eau et encore étendue de 3 à 5 fois son volume.

3) Il y a encore la réaction de Salkowsky : « Si on ajoute à la dissolution de cholestérine dans le chloroforme du H_2SO_4 concentré, le chloroforme se colore en rouge pourpre, tandis que l' H_2SO_4

sousjacent prend une teinte jaune-verdâtre fluorescente. Si l'on évapore la solution chloroformique rouge, celle-ci devient bleue, puis verte et enfin jaune. »

La cholestérine obtenue après deuxième cristallisation fut soumise à ces trois épreuves. Elle a donné les réactions indiquées, de même qu'une cholestérine type prise comme témoin. (M. Merckx-Darmstadt.) Nous mentionnerons enfin relativement à la première réaction que notre substance évaporée avec HNO_3 prend chaque fois une teinte verdâtre intermédiaire avant de laisser un résidu jaune.

CHAPITRE III.

DOSAGE DE LA CHOLESTÉRINE DANS LES HUILES ET LES GRAISSES.

1) Une méthode de dosage de la cholestérine a été indiquée par Ritter (Chemiker-Zeitung, 1901, n° 81). Ce chimiste élimine d'abord la glycérine et les savons entraînés dans l'insaponifiable en laissant reposer la solution d'éther ; il la décante ensuite, lave la fiole avec précaution et évapore le liquide éthéré. Le résidu est dissous dans le moins d'alcool possible sur bain-marie et la cholestérine est précipitée par des additions subséquentes de très peu d'eau. On filtre, lave et sèche à 60°. Enfin, on détache le précipité du filtre, on dissout par l'éther les parties adhérentes et l'on évapore la solution totale dans un vase taré, puis on sèche à 100-102°.

Ritter prétend obtenir par ce procédé une plus grande quantité de cholestérine à l'état pur.

Nous n'avons pu l'appliquer à l'insaponifiable de l'huile d'esprot ni à celui du beurre, parce que les matières poisseuses empêchent la cholestérine de se précipiter normalement et troublent la filtration.

2) La transformation de la cholestérine en son *éther acétique* a fait l'objet de plusieurs essais fructueux.

Nous avons institué d'abord une série d'expériences sur la cholestérine pure, pour savoir si la combinaison avec le radical acé-

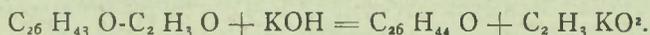
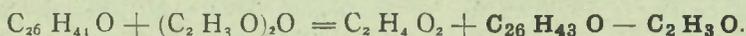
tyl avait lieu selon des lois constantes et pour connaître les conditions les mieux appropriées pour la réaliser.

Nous avons fini par adopter le mode opératoire que voici.

Quelques décigrammes de cholestérine sont chauffés, sur bain-marie bouillant, en présence de 5 cc. d'anhydride acétique pur, pendant 2 heures. L'excès d'anhydride est ensuite transformé en acide acétique par addition d'eau et éliminé par filtration et lavages abondants; l'éther précipité reste sur le filtre sous la forme de grumeaux qu'on écrasera prudemment pendant le lavage et la dessiccation. Nous séchons le précipité sur le filtre à 95-100° pendant 4-6 heures; les traces d'acide acétique restées dans la substance s'évaporent à l'étuve.

La substance est dissoute par l'éther et recueillie dans un ballon, où elle est traitée par 20 cc. de KOH en solution alcoolique à 3 %, au bain-marie pendant 1 heure. Nous évaporons alors l'alcool, ajoutons de l'eau, acidifions avec un volume déterminé de H₂ SO₄ et nous distillons par un courant de vapeur l'acide acétique mis en liberté. Le volume du distillat varie ordinairement de 825 à 850 cc. Nous le titrons avec une solution $\frac{n}{10}$ de potasse et en déduisons le poids de cholestérine correspondant.

Voici l'exposé des diverses réactions qui se succèdent au cours de ces manipulations :



Résultats obtenus :

1) avec la cholestérine pure.

quantité employée	quantité retrouvée	différence %
a) 0,2805 gr	0,2826 gr.	+ 0,75 %
b) 0,3702	0,3725	+ 0,62 %
c) 0,3526	0,3589	+ 1,7 %
d) 0,2713	0,2730	+ 0,63 %

2) Avec différents échantillons d'insaponifiable préparés selon notre méthode.

	<i>cholestérine pour 100</i>	<i>point de fusion</i>	<i>indice d'iode</i>
a) <i>Insaponifiable d'huile d'esprot n° I</i>	78,4 %	106,5°	—
b) <i>idem n° II</i>	82,9 %	108°	—
c) <i>idem n° III</i>	85,8	117° à	73,6
	85,0	119,4	
d) <i>Insaponifiable de beurre</i>	76,6 %	—	—

REMARQUES. 1) L'approximation des chiffres fournis par cette méthode semble bien suffisante. En effet, admettons une différence de 0.63 gr. pour 100 de cholestérine. Pour une huile d'esprot à 1,36 d'insaponifiable pour 100 et avec une teneur moyenne de 82 gr. de cholestérine pour 100 d'insaponifiable, on constate que la différence envisagée se rapporte au poids de 8970 grammes d'huile.

2°) Les difficultés de cette méthode résident dans les opérations suivantes.

a) La précipitation de l'éther acétique de cholestérine. Celui-ci, encore chaud, est additionné de quelques gouttes d'eau froide, puis abandonné au repos jusqu'à refroidissement. On verse alors un assez grand volume d'eau sur le précipité et on filtre en prenant soin de ne briser les cristaux agglomérés que vers la fin du lavage.

b) La dessiccation à l'étuve. Cette opération doit être suffisamment longue (5-6 heures) pour être parfaite. On pulvérise la substance sur le filtre au fur et à mesure qu'elle se dessèche, de façon que les dernières traces de $C^2 H^4 O^2$ s'éliminent aisément.

c) L'acidification par $H^2 SO^4$ très dilué. On ajoute cet acide en quantité telle qu'il existe en léger excès dans le liquide à distiller.

d) La distillation par un courant de vapeur. Celle-ci sera suffisamment longue et très régulière. Les vapeurs de $C^2 H^4 O^2$ sont emportées mécaniquement avec la vapeur d'eau sans trace d'acide sulfurique. Il faut distiller au moins 800 cc. de liquide pour recueillir tout l'acide acétique libre.

Au commencement de la distillation, il est à craindre que le liquide ne mousse et ne soit entraîné dans le réfrigérant. On peut éviter

cet inconvénient en faisant bouillir préalablement l'eau destinée à fournir le courant de vapeur, pour en expulser l'air. Quand ces précautions sont prises, la cholestérine ne provoque pas la formation de nombreuses bulles au début de la distillation ; elle s'agglomère et se dépose bientôt sur les parois du vase au-dessus du liquide bouillant.

Enfin, la densité de ce liquide doit rester constante durant toute la marche de la distillation ; cette condition sera remplie, si le volume du liquide traversé par le courant de vapeur reste invariable.

* * *

La *teneur* des huiles en cholestérine ainsi que *la forme* sous laquelle cette substance s'y rencontre offrent un certain intérêt au point de vue de l'emploi des huiles dans l'alimentation et en thérapeutique.

Nous n'avons pas encore entrepris des recherches dans ce sens.

La cholestérine existe vraisemblablement dans les huiles comme telle, ou sous la forme d'un éther soluble dans les glycérides.

Hürthle, Brown, Slosse ont constaté dans le sérum du sang de chien, de porc, de mouton, de bœuf, de cheval, ainsi que dans le serum du sang d'oiseaux, poules, dindon, oie, canard, et dans l'urine chyleuse la présence d'oléate et de palmitate de cholestérine. S'il existe un sel analogue dans les huiles, son identification présente en tous cas plus de difficultés que pour les substances étudiées par les auteurs précités.

CHAPITRE IV.

ÉTUDE COMPARATIVE DES RÉACTIONS DE COLORATION

de l'huile, de la cholestérine et de l'insaponifiable.

1) **Action de H_2SO_4 .** Nous avons étudié cette réaction de deux façons.

A) Nous avons dissous une goutte d'huile ou quelques particu-

les de substance solide dans 18-20 gouttes de sulfure de carbone et ajouté 1 goutte de H_2SO_4 concentré, ce qui nous a donné :

a) avec l'huile d'esprot étudiée, une coloration violette très fugace, à laquelle succède une coloration rouge-brunâtre également fugace.

b) avec la cholestérine, une pure coloration rouge légèrement brunâtre qui persiste quelque temps.

c) avec l'insaponifiable, la même coloration qu'avec la cholestérine pure.

B) Nous avons pris 1 gr. d'huile ou quelques particules d'insaponifiable ou de cholestérine et avons ajouté 3 gouttes H_2SO_4 concentré. Nous avons obtenu :

a) avec l'huile, une teinte pensée (violet-rougeâtre), qui passe rapidement au rouge cerise et plus tard devient rouge-noirâtre.

b) avec la cholestérine pure, une teinte rouge-brunâtre foncée.

c) avec l'insaponifiable, une coloration rouge-brunâtre foncée.

Le violet donné par H_2SO_4 sur l'huile même est parfois difficile à distinguer ; mais on l'aperçoit bien là où l'huile existe en très-mince couche.

En somme, les colorations obtenues sont du même genre qu'avec l'huile, mais elles diffèrent quelquefois par l'intensité. La cholestérine paraît être ainsi la substance qui produit la coloration observée. Il serait intéressant de savoir si les huiles qui ne donnent pas de réaction avec l'acide sulfurique ne renferment pas de cholestérine.

2) Action de l'acide nitrique fumant.

« On opère de la façon suivante : on dépose un verre de montre sur une feuille de papier blanc et on verse 10-15 gouttes d'huile ou quelques particules des substances solides à examiner, puis on fait arriver 3 gouttes d' HNO_3 fumant. »

a) L'huile prend une coloration rose-feu, plus ou moins flamboyante, qui devient rouge-feu uniforme après agitation.

b) La cholestérine pure ne donne rien.

c) L'insaponifiable ne donne aucune coloration avec l'acide nitrique.

3) **Action du réactif de Cailletet.** Il est composé de

$H_3 PO_4$ à 55° B \acute{e} . : 12 parties

$H_2 SO_4$ à 66° B \acute{e} . : 7 »

HNO_3 à 40° B \acute{e} . : 19 »

Dans un flacon bouché à l'émeri, on introduit 5 cc. d'huile à essayer, 1 cc. du réactif et 5 cc. de benzine pour dissoudre l'huile; on agite le mélange pendant quelques secondes et on abandonne le tout au repos pendant une $\frac{1}{2}$ heure.

a) L'huile d'esprot fournit une coloration rouge, qui se fonce en brun.

b) La cholestérine ne donne rien.

c) L'insaponifiable donne une faible coloration jaune-brune persistante.

Bref, ce dernier réactif ne fournit pas d'indication précise.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

1) Le dosage de l'insaponifiable des matières grasses ne peut fournir des résultats rigoureux, si l'on a recours indifféremment à l'une ou l'autre des nombreuses méthodes habituellement en usage.

2) La méthode que nous avons étudiée paraît la plus apte à permettre d'extraire tout l'insaponifiable à l'état pur, par conséquent à le doser. Le principal écueil à éviter est la dissolution de savons en présence d'eau. Pour extraire complètement l'insaponifiable sans entraînement de matières étrangères, il faut épuiser la substance entièrement privée d'eau au moyen de l'éther parfaitement anhydre.

3) Les matières insaponifiables renferment, en majeure partie, de la cholestérine (75 à 85 %) et en outre d'autres substances imparfaitement étudiées.

4) Le dosage de la cholestérine dans l'insaponifiable peut

s'effectuer avec une approximation suffisante par la transformation de ce corps en son éther acétique et le dosage de l'acide acétique combiné.

5) Enfin l'insaponifiable renferme des substances capables de produire certaines réactions de coloration susceptibles d'application.

BIBLIOGRAPHIE.

1. WURTZ. *Cholestérine. Dictionnaire de chimie pure et appliquée.* — Paris — Hachette. 1^{re}; 2^e partie, page 880.
2. FAHRION. *Etude sur l'insaponifiable des corps gras.* — *Moniteur scientifique* du Docteur QUESNEVILLE. — Paris. — 1899-XIII-61.
3. P. NEFF. *Détermination des éléments insaponifiables des oléines commerciales. Les corps gras industriels.* — Paris. n^o 22. 1901.
4. SLOSSE. *Note sur la présence des éthers de la cholestérine dans l'urine chyleuse. Bulletin de l'association belge des chimistes.* n^o 10. 1901.
5. F. JEAN. *Analyse des matières grasses*, 1892. — Paris. pages 118 à 140, et 293.
6. LEWKOWITSCH *Laboratoriumsbuch für die Fett- und Harz-Industrie*, 1902 — Braunschweig. Seiten : 24-25-36-37 ; 46 à 59.
7. C. ARLNOLD. *Repetitorium der Chemie*, 1898. Hamburg. und Leipzig. Verlag von Voss. Seiten 426^e et 554.
8. A. BÖMER. *Beiträge zur analyse der Fette. Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs — und Genussmittel.* — SPRINGER. — Berlin. nos 1, 2, 8 : 1898 ; nos 19, 23 : 1901.
9. HENRIQUES. *Ueber Kalte Verseisung. Zeitschrift für angewandte Chemie.* Heft 24, 1895. — H. 14, 1896. — H. 12, 1897. — H. 30, 1898.
10. E. RITTER. *Methode zur quantitativen abscheidung von cholesterinen aus Fetten. Chemiker-zeitung* n^o 81. 1901.

L'EMPLOI
DE LA
SCIURE DE BOIS
DANS
L'INDUSTRIE DES HUILES ET DU GUANO DE POISSON
PAR
L. SERVAIS
DOCTEUR EN SCIENCES.

On sait que les huiles de poisson s'extraient de ceux-ci comme tels ou de leurs déchets, en transformant la masse en une bouillie au moyen de la vapeur d'eau, bouillie qui, après avoir été mise en sacs, est soumise à l'action d'une forte pression. Mais ce procédé présente des inconvénients sérieux dont je signalerai les deux principaux :

1° Cette extraction est loin d'être totale.

On constate en effet que, même en utilisant les fortes pressions que l'industrie moderne peut fournir, il reste encore dans les déchets environ 5 % de matières grasses.

2° Ces huiles se font remarquer par la propriété qu'elles possèdent de former, avec l'eau et les matières albuminoïdes en suspension, des émulsions qui ne se détruisent que très difficilement, même en augmentant la densité de la couche aqueuse par la dissolution d'un sel tel que le sel de cuisine. Or les matières albuminoïdes se putréfient très rapidement en présence de l'eau ; pour peu que l'on attende même un jour avant de décanter (temps minimum pour obtenir une séparation bien nette) les produits de cette fermentation se mêlent à l'huile, la rendent absolument infecte et en diminuent considérablement la valeur commerciale.

D'un autre côté, l'extraction par les dissolvants réclame des conditions qu'il n'est pas facile de remplir :

- 1° La masse à extraire doit être convenablement divisée.
- 2° Elle doit être desséchée totalement.

C'est précisément ce second point qui constitue la pierre d'achoppement et qui a empêché le procédé par extraction de se généraliser.

Je crois avoir trouvé dans la sciure de bois un élément qui pourra être d'un grand secours pour réaliser la dessiccation.

Et de fait il est étonnant de voir combien la masse, sommairement divisée, se désagrège facilement, et combien est rapide et complète l'élimination de l'eau, si l'on mêle aux poissons et aux déchets ne fut-ce même qu'un quart de leur poids de sciure de bois.

Cette opération peut être faite à feu nu en prenant la précaution d'agiter la masse de façon à renouveler les couches.

On disposera de préférence la charge à extraire et la sciure en couches alternatives de peu d'épaisseur. On se servira avantageusement de bacs à large surface et de peu de hauteur (30 à 40 centimètres) chauffés au moyen de serpentins fermés tapissant le fond.

La vapeur qui circule dans les serpentins à une pression de $1 \frac{1}{2}$ atmosphère fournit une température suffisante pour éliminer totalement l'eau.

Après deux heures environ d'évaporation, la masse présente l'aspect d'une poudre absolument exempte d'eau et qui, vu son état de désagrégation vraiment remarquable, se trouve être dans des conditions excellentes pour être soumise à l'action des dissolvants.

Mais le procédé par extraction ne fournit que des huiles brunes et, sous ce rapport, il présente sur le procédé par pression un désavantage marqué. Mais cela n'est qu'apparent, car nul n'ignore qu'on possède aujourd'hui d'excellents moyens pour décolorer sensiblement les huiles même les plus brunes.

Les frais entraînés par la décoloration sont largement compen-

sés par l'augmentation du rendement en huile, car l'extraction est totale.

Parmi les agents de décoloration les plus actifs, il y a à citer :

1° Le silicate double d'aluminium et de magnésium hydraté.

2° La terre d'infusoires.

3° Le noir animal.

J'insisterai principalement sur le premier qui donne les meilleurs résultats.

L'hydro-silicate alumino-magnésique est un produit naturel qu'on trouve en grande quantité en Floride. Son pouvoir décolorant croît proportionnellement à son état de division.

On l'emploie à raison de 1 à 10 % suivant la coloration de l'huile à traiter. Voici comment on peut aisément effectuer cette opération.

L'huile étant chauffée vers 80°, on y ajoute la quantité voulue de réactif et agite violemment pendant une heure ou deux ; on l'envoie ensuite au filtre-pressé, d'où elle s'écoule claire et limpide.

J'ai obtenu également de bons résultats avec l'oxyde de zinc, qu'on emploie en quantité proportionnelle à l'acidité de l'huile.

Revenons à la matière extraite : elle se présente sous la forme d'une poudre propre à dessécher et à désagréger une nouvelle charge de poissons ou de résidus.

On peut ainsi l'employer pendant un certain nombre d'opérations et ce jusqu'à ce qu'elle contienne la quantité d'azote nécessaire pour constituer un bon guano.

Un avantage non moins précieux de la sciure de bois consiste en ce fait que la dessiccation s'effectue sans aucune odeur désagréable et que le mélange préparé pour être extrait peut être conservé pendant fort longtemps sans subir la moindre altération. Sa conservation est encore prolongée, si l'on prend la sciure de bois de chêne qui, sous l'action de la chaleur, donne naissance à des produits antiseptiques.

Jusqu'ici les résidus, putréfiés dans la plupart des cas, sont desséchés directement à feu nu, sans l'intermédiaire d'aucune

substance protectrice et adjuvante, ce qui amène la combustion d'une partie de la substance. Cette opération s'accompagne d'une odeur infecte et les dispositifs utilisés pour brûler les gaz odorants ne diminuent que fort partiellement l'intensité de l'odeur.

J'ai prié un fabricant d'huile de foie de morue d'essayer l'emploi de la sciure pour la dessiccation et l'extraction éventuelle de l'huile des résidus provenant de sa fabrication.

Les conditions se trouvaient être beaucoup plus mauvaises que pour les poissons ou les déchets de poissons, vu que ces sous-produits renferment une quantité d'eau beaucoup plus considérable, et se putréfient d'autant plus vite. Les résultats obtenus ont été assez satisfaisants.

Ostende, Janvier 1902.

CONSERVE
DE
POISSON AU NATUREL,

PAR LE DR M. HENSEVAL.

23603

Il existe des poissons que l'on a l'habitude de faire cuire à l'eau et de consommer, soit avec une sauce au beurre, soit avec une sauce composée. Nous nous sommes demandé s'il ne serait pas possible d'en faire une conserve que l'on pourrait consommer de la même façon. Les expériences que nous poursuivons depuis plus d'un an sur cette question nous ont donné une entière satisfaction : nous avons obtenu des produits qui n'avaient subi aucune altération ; le poisson avait parfaitement conservé son goût et son arôme naturels et les conserves se gardaient indéfiniment.

Quels sont les poissons que l'on pourrait employer à cet usage ? Ils doivent répondre à deux conditions essentielles : posséder une chair assez consistante pour ne pas se désagréger pendant la stérilisation ; être assez abondants et d'un prix peu élevé. Beaucoup d'espèces peuvent convenir, mais celles qui nous paraissent le mieux répondre à ces conditions sont : le grondin, le rouget, le trigle, le loup de mer, la grande vive, le chien de mer, l'aiguillat, le milandre, la lingue, le charbonnier, le congre.

Nous allons exposer brièvement le mode opératoire qui nous a le mieux réussi.

Les poissons sont lavés, nettoyés, étêtés et mis à saler pendant 2 heures dans une saumure à 15-17 % de sel. Puis, il sont mis en boîtes, soit en boîtes rondes serties, soit en boîtes allongées à soudure. Au point de vue de la facilité du travail et de la sécurité dans la fabrication, les premières sont supérieures, mais leur emploi oblige à incurver le poisson dans la boîte, ce qui nuit à l'aspect de la marchandise, comme disent les commerçants ; tandis que les boîtes allongées permettent de conserver la forme du poisson. Ce sont là des exigences de commerce dont il faut tenir

compte, puisque le public est ainsi fait qu'il veut qu'on lui présente une marchandise qui flatte d'œil. Mais l'emploi de ces boîtes complique le travail et donne un plus grand déchet à la stérilisation.

Lorsque le poisson est mis en boîtes, on remplit les espaces vides avec de l'eau et on ferme la boîte. Si l'on emploie des boîtes allongées, on soude le couvercle d'abord, on ajoute l'eau par un trou que porte la boîte latéralement, puis on le ferme en y soudant une petite plaque de fer-blanc.

Les boîtes doivent être ensuite stérilisées. A quelle température et pendant combien de temps faut-il chauffer pour obtenir une stérilisation parfaite en faisant subir le moins possible d'altération au poisson ?

Ainsi posée, la question paraît simple ; une série d'essais à différentes températures et pendant des durées variées devait y répondre. Seulement, rappelons-nous qu'il arrive souvent qu'en stérilisant des conserves à une température et pendant un temps déterminé, on peut obtenir une stérilisation parfaite dans un essai, mais l'essai suivant, fait exactement dans les mêmes conditions, ne réussit pas du tout. Cela s'explique facilement : dans le premier cas, il n'y avait sans doute que des microbes peu résistants et cela est très fréquent. Il suffira de rappeler l'histoire du procédé Appert pour convaincre les incroyants. On sait que ce procédé consistait, dans sa forme primitive, à renfermer dans des bouteilles ou bocaux les substances à conserver, à boucher soigneusement ces vases de façon à en assurer la fermeture hermétique, à plonger ensuite les bouteilles dans un bain-marie et à les soumettre, pendant un temps plus ou moins long, suivant leur nature, à l'action de l'eau bouillante. Ce procédé subit différentes modifications dont la principale consistait à chasser l'air des boîtes. Le procédé Appert fut rapidement adopté, et des fabriques de conserves, établies à Bordeaux, à Nantes, au Mans, en firent usage avec succès jusqu'en 1847, époque à laquelle la plus grande partie de leur production s'altéra. (X. ROCQUES, *Revue générale des sciences pures et appliquées*, 15 Août 1901.)

Avec les données actuelles de la science, ces méprises ne sont plus possible.

Nous avons abordé ce problème d'une autre façon. Nous possédons au laboratoire des cultures des microbes très résistants qui proviennent des essais de stérilisation qui n'ont pas réussi ; nous les conservons chaque fois en culture. A chaque essai, on ajoutait quelques gouttes de la culture de ces microbes ; on y ajoutait également quelques gouttes d'eau d'égoût qui contient aussi des microbes très résistants. On avait ainsi grande chance de rencontrer les microbes les plus résistants auxquels on peut avoir à faire dans la pratique. Nous ne rapporterons pas la nombreuse série d'essais que nous avons faits, il nous suffira de citer les plus démonstratifs, ceux qui montrent dans quelles conditions doit s'effectuer cette opération.

1. Dix boîtes de grondin, préparées comme il est dit plus haut et additionnées de cinq gouttes d'un mélange de microbes très résistants, en culture sur bouillon, et de cinq gouttes d'eau d'égoût, sont stérilisées à l'autoclave Chamberland pendant 20 minutes à une demi-atmosphère. Non stériles.

2. Dix boîtes de grondin, préparées comme ci-dessus, sont stérilisées pendant 25 minutes à une demi-atmosphère. Huit boîtes sont stériles, deux ne le sont pas.

3. Dix boîtes de grondin, préparées comme ci-dessus, sont stérilisées pendant 30 minutes à une demi-atmosphère. Elles sont stériles.

4. Dix boîtes de grondin, préparées comme ci-dessus, sont stérilisées pendant 35 minutes à une demi-atmosphère. Elles sont stériles.

5. Cinquante boîtes de grondin, préparées comme ci-dessus, sont stérilisées pendant 35 minutes à une demi-atmosphère dans une autoclave industrielle chauffée à la vapeur. Toutes sont trouvées stériles.

Les essais 1-4 ont été faits avec un appareil de laboratoire, l'autoclave de Chamberland, mais ceux qui ont été faits avec l'autoclave industrielle et dont nous n'en rapportons qu'un prouvent que l'opération se fait de la même façon et réussit parfaitement. Seulement il est nécessaire de faire bien attention aux points suivants : on ne doit fermer l'échappement de la vapeur

que quand l'air est évacué de l'appareil et lorsque les boîtes sont bien échauffées et que leur température se trouve au voisinage de 100°. Nos essais ont été faits en mettant un thermomètre à maxima à l'intérieur de l'autoclave pour vérifier la température.

Nous avons employé uniquement des boîtes d'une contenance d'un demi-litre.

Il importe de remarquer que pour réussir la fabrication de la conserve de poisson que nous étudions, on ne peut aucunement modifier les conditions dans lesquelles nous nous sommes placé sans s'exposer à des accidents.

La stérilité des boîtes a été contrôlée de la façon suivante : on les dépose dans une étuve à température constante à 35° et on les y laisse 15 jours à 3 semaines ; si elles ne sont pas altérées après ce temps, on considère que la stérilisation est parfaite. Nous engageons les fabricants à contrôler la stérilité de leurs produits de cette manière.

Nous avons préparé de nombreuses boîtes de poissons de cette façon : elles se sont parfaitement conservées. Le goût et l'arôme du poisson étaient intacts ; et après un an, on n'aurait pas pu le distinguer du poisson frais et fraîchement cuit.

Pour utiliser cette conserve, nous conseillons d'opérer de la façon suivante : on plonge les boîtes dans l'eau bouillante pendant 5-8 minutes, puis on enlève le poisson ; il est prêt à être servi et on le mange avec une sauce.

BIBLIOGRAPHIE.

1. *The preservation of fish* by J. C. Ewart, M. D. London, 1887.
2. J. DE BREVANS : *Les conserves alimentaires*. Paris, Baillière et fils, 1896.
3. X. ROCQUES : *L'état actuel et les besoins de l'industrie des conserves alimentaires en France*. *Revue générale des sc. pures et appliquées*, 15-30 août 1901.
4. J. OGIER et X. ROCQUES : *Les conserves alimentaires. Moyens à employer pour éviter les accidents*. X^e Congrès international d'hygiène et de démographie, Paris, 1900.
5. L. VAILLARD : *Les conserves alimentaires de viande*. X^e Congrès international d'hygiène et de démographie, Paris, 1900.

ÉTUDE
SUR LES
CARACTÈRES DE L'HUILE D'OLIVE
AYANT SERVI

A LA PRÉPARATION DE CONSERVES D'ESPROT FUMÉ
PAR

23604 LE D^r M. HENSEVAL ET MAX DENY.

Au mois de Janvier 1901, nous avons préparé de l'esprot fumé d'après la méthode que l'un de nous a décrite dans les Annales de la Société scientifique (t. XXV, 1^{re} partie); puis il a été mis en boîtes avec de l'huile d'olive de la marque Muratorio et stérilisé à 110° pendant 30 minutes.

Nous avons voulu nous assurer que l'huile d'olive employée était bien pure et nous en avons déterminé les caractères.

Après un an environ, en février 1902, nous avons fait l'analyse de l'huile qui avait séjourné dans les boîtes.

Nous avons tenu à faire les principales déterminations que l'on fait habituellement sur les huiles, sans tenir compte de leur importance relative au point de vue de la recherche des fraudes et sans préjuger des caractères sur lesquels auraient pu porter particulièrement les modifications. Les caractères de l'huile d'olive ne sont pas absolument fixes; nous pourrions ainsi découvrir les moindres modifications; en outre, il y a autant d'intérêt à connaître ceux qui n'ont pas subi de changement que ceux qui en ont subi.

Les méthodes d'analyse des huiles sont extrêmement variées; il ne sera peut-être pas inutile de donner quelques indications brèves sur celles que nous avons suivies en certains cas.

L'indice d'iode a été déterminé par la méthode primitive de Hübl (on mélange la solution d'iode et de sublimé 24 heures avant l'essai) après 6 heures à la lumière diffuse. L'indice d'acétyle a été fait par la méthode de Lewkowitz: l'acide acétique fixé par l'huile ou les acides gras est mis en liberté et entraîné par un courant de vapeur; puis il est évalué par titrage. La glycérine a été dosée par la méthode de Bull ou par la méthode au bichromate. Les matières insaponifiables ont été dosées par la méthode suivante :

le savon est dissous dans l'eau et extrait à froid par l'éther sulfurique dans une boule à décantation ; on évapore l'éther et on sèche, puis on reprend le résidu par l'éther sulfurique parfaitement anhydre que l'on évapore, sèche et pèse. Cette méthode permet d'obtenir des matières insaponifiables exemptes de cendres.

L'huile et les acides gras ne sont jamais séchés à l'étuve, mais dans le vide à basse température ; on évite ainsi l'oxydation de ces substances qui est très énergique dans ces conditions. L'exemple suivant le démontre amplement. A titre de contrôle, nous avons tenu à faire vérifier certaines de nos déterminations par M. Servais, assistant au laboratoire, sans lui donner aucune indication sur la nature des échantillons. Il avait préparé les acides gras de deux façons :

a) Dans le premier cas, il sécha à l'étuve à 100° les acides gras préparés par la méthode ordinaire.

b) Dans le second cas, il les sécha dans le vide à basse température.

Voici les résultats qu'il obtint pour l'indice d'iode des acides gras de trois huiles :

	Acides gras séchés à l'étuve	Acides gras séchés dans le vide
Huile d'esprot	146,81	161,90
» d'olive	75,80	87,89
» d'olive de conserve	85,33	100,70

Cet exemple montre qu'il n'est pas indifférent de déterminer l'indice d'iode sur des acides gras préparés d'une façon quelconque ; en général, il est préférable de faire cet indice sur les huiles, parce que ces substances sont moins altérables que leurs acides gras fixes. Dans notre travail, nous avons déterminé l'indice d'iode des huiles et des acides gras ; nous avons surtout pour but d'étudier aussi bien que possible un caractère qui nous paraissait très important.

Comparaison des caractères de l'huile d'olive avant la fabrication des conserves et après séjour d'un an dans les boîtes de conserve d'esprot fumé.

	Huile d'olive avant utilisation	Huile d'olive ayant séjourné un an dans les boîtes
I ESSAIS SUR LES HUILES COMME TELLES		
Densité	0.91736	0.9186
Echauffement sulfurique	47° 3	59.9
Indice de réfraction	62.6 à 25°	65.4 à 25°
Acidité	5.7	6.8
Indice de saponification	194.9	195.2
» Hehner	95.8	94.67
» Reichert	0.86	2.00
» d'iode	84.9	97.2
» d'acétyle	7.1	7.08
Dosage de la glycérine	10.5	10.70
» des matières insaponifiables	0.95	0.79
Réactions de coloration (sur l'huile même)		
A) Action de l'acide chlorhydrique sucre et furfurolé	Absence de coloration	Absence de coloration
B) Action de l'azotate d'argent	Aucune réduction	Aucune réduction
C) Recherche de l'acide arachidique	Absence	Absence
D) Action de l'acide azotique	Aucune coloration	Coloration brun-rougeâtre
II. ESSAIS SUR LES ACIDES GRAS.		
Point de fusion	26.7	27.08
Point de solidification	21.2	22.55
Chiffre d'acidité	200.0	201.12
Chiffre de saponification	210.57	212.24
Différence (lactones ?)	10.56	11.12
Indice d'iode	87.68	99.42
Indice d'acétyle	10.75	10.50
Réactions de coloration (sur les acides gras)		

Action de l'acide chlorhydrique sucré et furfurolé	Absence de coloration	Absence de coloration
b) Action de l'azotate d'argent.	Aucune réduction	Aucune réduction

REMARQUES. — 1. Si on examine attentivement ces deux tableaux, on remarque que certains caractères essentiels de l'huile d'olive sont profondément modifiés dans celle qui a séjourné dans les boîtes de conserve. Ce sont : l'échauffement sulfurique ou degré de Maumené, l'indice de réfraction et l'indice d'iode. L'huile d'olive des boîtes présente en outre une réaction de coloration anormale avec l'acide azotique. On sait que cette coloration existe aussi pour l'huile de coton et l'huile d'œillette. Mettons en regard les indices modifiés.

	Huile d'olive employée pour la fabrication	Huile d'olive ayant séjourné dans les boîtes
Echauffement sulfurique	47.3	59.9
Indice de réfraction	62.6 à 25°	65.4 à 25°
Indice d'iode	{ huile	84.9
	{ acides gras	87.68
		97.2
		99.42

2. — L'indice de saponification, l'indice de Hehner, l'indice d'acétyle de l'huile sont restés fixes. Le point de fusion et de solidification, le chiffre d'acidité et de saponification, l'indice d'acétyle des acides gras sont restés normaux et n'ont pas varié. (Les petites différences se trouvent dans les limites d'analyse.)

3. — L'acidité, l'indice de Reichert et la quantité des matières saponifiables sont peut-être légèrement modifiés, mais les modifications sont insignifiantes pour indiquer une influence quelconque de la stérilisation sur l'huile contenue dans les boîtes.

4. — Si l'expert n'avait eu à sa disposition que l'huile provenant des boîtes de conserve, il aurait dû conclure à une falsification par l'huile de coton ou plutôt l'huile d'œillette, puisqu'elle ne donne pas la réaction de Béchi.

Les modifications subies par l'huile qui a séjourné dans les boîtes de conserve peuvent-elles s'expliquer ?

Dans les boîtes de conserve, le contenu est absolument soustrait à l'action de l'air. Cette condition est indispensable à leur conservation : la moindre fissure provoque la putréfaction du contenu des boîtes. D'ailleurs, l'oxydation de l'huile provoquerait une modification en sens contraire de celle que nous avons constatée et particulièrement de l'indice d'iode.

L'action de la chaleur sous pression, pendant la stérilisation, pourrait, à la rigueur, provoquer une saponification en présence d'eau surchauffée ; il en reste toujours un peu dans les poissons. Mais on peut voir par l'examen de nos chiffres que l'importance de cette cause est minime : l'acidité de l'huile est à peine modifiée et l'indice de saponification ne l'est pas. Il faut donc écarter ces causes. L'huile a dû *dissoudre* une substance contenue dans le poisson et qui peut en modifier les caractères. Quelle est cette substance ? Il était naturel de penser à l'huile du poisson lui-même. Nous avons fait une étude détaillée de l'huile d'esprot et voici les résultats auxquels nous sommes arrivés.

ANALYSE DE L'HUILE D'ESPROT.

I. Essais sur l'huile comme telle.

Densité	0,9274
Echauffement sulfurique	96°,5
Indice de réfraction	76,5 à 25°
Acidité	6,885
Indice de saponification.	194,5
Indice de Hehner	95,10
Indice de Reichert.	1,40
Indice d'Iode	142,0 à 122,5
Indice d'acétyle	8,8
Dosage de la glycérine	10,48
Dosage des matières insaponifiables	1,36
Réactions de coloration (sur l'huile elle-même).	

- a) Action de l'acide sulfurique. Coloration violette, puis rouge cerise et rouge noirâtre.
- b) Action de l'acide azotique. Teinte rose feu qui s'accroît, devient rouge, puis se fonce et passe au brun-foncé.
- c) Réactif de Cailletet. Teinte rouge qui se fonce rapidement et devient brun-foncé.

II. Essais sur les acides gras.

Point de fusion	25,4
Point de solidification	27,9
Chiffre d'acidité	196,3
Chiffre de saponification	200,8
Différence (lactones ?)	4,5
Indice d'iode	147,6
Indice d'acétyle.	8,4

Au cours de l'étude détaillée que nous avons faite de l'huile d'esprot, nous avons constaté que certains caractères étaient très variables, entr' autres l'indice d'iode.

Dans une huile qui avait été bien préparée, séparée immédiatement de l'eau et des matières organiques, mise à cristalliser au froid pendant 2 mois, puis filtrée trois mois après sa fabrication, nous trouvons 142,0 pour l'indice d'iode; un an plus tard, nous ne trouvons plus, dans la même huile, que 122,5.

A titre de contrôle et pour nous assurer de la variabilité de ce caractère, nous avons remis à M. Servais une huile fraîche qui venait d'être préparée et qui n'avait pas été privée de sa stéarine pour en déterminer l'indice d'iode. Il a obtenu les chiffres suivants:

1 ^{er} essai	158,9
2 ^d essai	157,8

Si l'huile avait été entièrement privée de sa stéarine, elle aurait donné un chiffre encore plus fort.

On sait que les huiles de poissons ont, en général, un indice d'iode très élevé et variable. Pour ne citer que l'huile de foie de morue, tous les auteurs qui ont déterminé ce caractère ont trouvé

des chiffres différents. M.M. Jorissen et Eug. Hairs (note sur l'huile de foie de morue; Journal de pharmacie de Liège, III, n° 2, février 1896) avaient nettement observé le fait de la diminution de l'indice d'iode dans l'huile de foie de morue : une huile de foie de morue préparée avec des foies provenant d'Ostende avait pour indice d'iode : 165 ; quatre mois plus tard, elle ne marquait plus que 155,8 ; puis le chiffre resta stationnaire.

Cette propriété est encore plus prononcée dans l'huile d'esprot.

REMARQUE. — L'examen comparatif des chiffres obtenus dans l'analyse de l'huile d'esprot avec celui de l'huile d'olive ayant séjourné dans les boîtes de conserve montre que les chiffres correspondant à ceux qui ont été modifiés dans l'huile d'olive sont très élevés dans l'huile d'esprot. Mettons les en regard dans les trois produits :

	Huile d'olive	Huile ayant séjourné dans les boîtes	Huile d'esprot
Echauffement sulfurique	47.3	59.9	96°5
Indice de réfraction	62.5 à 25°	65.4 à 25°	76°5 à 25°
Indice d'iode	huile	84.9	142.0
	acides gras	87.68	99.42

En examinant ces chiffres, il semble qu'il n'y ait qu'une seule explication possible : l'huile d'esprot a diffusé dans l'huile d'olive et en a modifié les caractères.

Ajoutons, en outre, que cette explication est encore confirmée par la coloration produite par l'acide azotique.

CONCLUSIONS.

1. — L'huile d'olive ayant séjourné dans les boîtes de conserves d'esprot fumé a subi des modifications dans ses caractères essentiels. Ces modifications portent sur l'échauffement sulfurique, l'indice de réfraction, l'indice d'iode et la coloration par l'acide azotique.

2. — Ces modifications peuvent s'expliquer en admettant la diffusion de l'huile d'esprot dans l'huile d'olive.

Cette question nous avait été signalée par M. l'Inspecteur général du service de la fabrication et du commerce des denrées alimentaires et c'est, à sa demande, que nous avons exécuté ce travail.

ÉTUDE

SUR LE

NOIRCISSEMENT DE LA VASE DANS LA MER DU NORD

PAR

23605 M. HENSEVAL ET J. HUWART.

(COMMUNICATION PRÉLIMINAIRE).

DANS son exploration de la Mer du Nord, M. le Professeur Gilson a rencontré, sur de vastes étendues, un sédiment à grains extrêmement tenus, qu'il désigne sous le nom de *vase*; c'est évidemment une vase littorale, notablement différente des vases que l'on rapporte des grandes profondeurs.

Elle se présente sous deux aspects : la *vase grise* et la *vase noire*.

« a) La vase noire, examinée au moment où le sondeur est ouvert, est une pâte d'un noir plus ou moins grisâtre, avec un reflet violacé souvent très marqué. Elle est assez consistante et onctueuse au toucher. Cependant on y sent presque toujours quelques grains de sable et, lorsque ceux-ci sont très nombreux, l'échantillon reçoit le nom de *vase noire sabieuse*.

Elle répand le plus souvent une odeur sulfhydrique bien nette et parfois assez forte.

b) La vase grise présente les mêmes caractères extérieurs que la vase noire, à part sa couleur, qui est d'un gris plus ou moins clair, et l'absence de l'odeur sulfhydrique. »

Le fond de la Mer Noire est recouvert, à ce qu'on rapporte, d'une couche épaisse de boue noire.

On a souvent signalé la présence de vase noire dans les égoûts, sur les côtes argileuses, dans la boue des marécages, des étangs, des fleuves et des canaux.

Une observation attentive fit reconnaître à M. Gilson certaines particularités intéressantes que nous avons prises pour base dans notre étude. Elles sont exposées dans son mémoire sur l'explora-

tion de la mer sur les côtes de Belgique en 1899. En voici un court résumé.

La vase noire ne s'observe jamais seule dans la coupe du sondeur.

Elle y est toujours accompagnée d'une couche de vase grise. Celle-ci gît, au fond de la mer, au-dessus de la vase noire. On peut s'en assurer en examinant, à marée basse, la surface émergée du quai des pêcheurs à Ostende.

La vase grise, au contraire, peut exister sans vase noire, mais c'est seulement dans le cas où le sable sous-jacent n'est recouvert que d'une mince couche de sédiment vaseux.

La vase noire et la vase grise ne sont pas deux éléments sédimentaires distincts, deux couches géologiques d'origine différente. Ce sont deux manières d'être d'un même sédiment. En effet, la vase noire se transforme progressivement en vase grise au contact de l'air ou de l'eau chargée d'oxygène ; la transformation est instantanée en présence d'eau oxygénée.

La vase grise se transforme en vase noire ; on peut en faire la démonstration d'une façon très simple : il suffit de prendre de la vase grise fraîche dans un tube à réaction, d'y ajouter une trace de vase noire et de boucher hermétiquement le tube pour y créer des conditions favorables au développement des anaérobies. Après quelques jours, la vase noircit entièrement comme dans la mer.

L'odeur sulfhydrique de la vase fit penser, avec raison, à M. Gilson que la vase noire dérive de la vase grise par sulfuration.⁽¹⁾ Il était naturel d'attribuer la coloration noire à du sulfure ferreux et la transformation de la vase grise en vase noire à une oxydation des sulfures en sulfates.

Ces observations ont permis à M. Gilson d'expliquer la genèse et les transformations de ce sédiment ; mais ce point n'intéresse pas notre étude ; il a été traité dans son mémoire. M. Gilson avait reconnu que le noircissement de la vase était dû à des actions microbiennes qu'il serait intéressant d'étudier ; il voulut bien nous charger d'en faire l'étude.

1. Le mot sulfuration est employé ici dans le sens de production de sulfures.

Il nous a remis obligeamment tous les échantillons dont nous avons eu besoin dans ce but et il nous a aidé de ses conseils. Nous tenons à lui présenter nos meilleurs remerciements.

Dans le cours de ce travail, on remarquera beaucoup de données qui avaient été acquises par M. le professeur Gilson et que nous avons rappelées plus haut. Sur son conseil, nous avons repris cette étude sans nous en préoccuper, avec les moyens d'investigation de la technique bactériologique moderne. Nous en prévenons le lecteur et nous le prions de ne nous en rapporter que ce qui nous est personnel.

1. Le noircissement de la vase est dû à une action microbienne.

Nous avons tâché d'établir cette proposition en nous plaçant dans des conditions expérimentales irréprochables. Les expériences suivantes sont très démonstratives à ce point de vue.

On prépare une série de tubes renfermant environ 20 gr. de vase grise ; on y ajoute un peu d'eau de mer ; on les ferme à l'aide d'un tampon de ouate et on les stérilise à l'autoclave à 120° pendant 20 minutes.

a) Dix tubes sont additionnés, après stérilisation, d'une trace de vase noir prélevée à l'aide d'un fil de platine. Ceux-ci sont placés dans des tubes pour culture sur pomme de terre, munis d'un étranglement à la partie inférieure et dans lesquels on introduit, au préalable, une solution concentrée de pyrogallate de potasse, pour réaliser la culture anaérobie d'après la méthode de Buchner. On les bouche soigneusement et on les porte à l'étuve à 30°. On les y laisse 2 à 3 mois et on les observe de temps à autre.

Dix tubes stériles non additionnés de vase noire, sont placés dans les mêmes conditions expérimentales.

Après 6-7 jours, les tubes inoculés avec la vase noire commencent à se foncer ; on remarque, dans la masse, des points et des taches noires qui grandissent et se fusionnent ; la coloration finit par envahir toute la masse.

Dans les conditions où nous nous sommes placés, il faut 3 à 4

mois avant que la coloration noire soit aussi intense que dans la vase retirée de la mer. Nous verrons tout-à-l'heure que le phénomène peut-être plus rapide si on ajoute, au milieu, des substances nutritives, du bouillon, par exemple.

Les tubes nonensemencés avec la vase noire restent gris ; ils conservent leur couleur primitive.

Trois tubes en voie de noircissement, après trois semaines de développement, à l'étuve, ont été stérilisés à l'autoclave à 120° pendant 20 minutes et remis à l'étuve : la coloration de la vase est restée stationnaire et n'a plus progressé.

b) Quatre tubes de vase grise stérilisée, préparés comme plus haut, ont étéensemencés avec une trace de vase noire et additionnés d'antiseptiques : chloroforme, acide phénique, sublimé, formol ; puis on les a portés à l'étuve à 30°. Ils y sont restés six mois sans qu'on pût observer aucun changement dans la coloration de la vase.

Les conditions dans lesquelles se produit le phénomène du noircissement de la vase grise sont celles du développement des microbes anaérobies ; une cause vivante est seule capable de l'expliquer.

Ces conditions sont réalisées dans la vase au fond de la mer. M. Gilson a donc eu raison d'attribuer, à cette cause, le noircissement de la vase marine.

2. Quels sont les microbes qui produisent le noircissement de la vase grise ?

Pour résoudre cette question, il fallait :

1. Isoler les espèces microbiennes les plus fréquentes dans la vase noire.

2. Rechercher celles d'entr'elles qui étaient capables de reproduire le phénomène.

L'isolement des microbes nous a fait rencontrer beaucoup de difficultés : il a été obtenu à l'aide de deux méthodes : par des cultures aérobies sur bouillon gélatiné alcalin en boîtes de Pétri et par la méthode des tubes roulés en culture anaérobies.

Nous avons isolé ainsi un assez grand nombre d'espèces microbiennes, qu'il nous était impossible d'identifier à première vue et dont nous nous proposons de faire une étude détaillée plus tard : des coques associés, des streptocoques, des bâtonnets de différentes dimensions, les uns sporulés, les autres pas.

Nous choisissons pour nos recherches sept espèces que nous prenons parmi les plus fréquentes.

Des tubes renfermant de la vase grise et additionnés d'un peu d'eau de mer sont stérilisés à l'autoclave à 120° ; on ensemence deux tubes avec chacune des espèces trouvées et on les porte à l'étuve à 30°. Une partie laisse intacte la coloration de la vase, mais d'autres la colorent bientôt en noir, légèrement d'abord, puis la coloration s'accroît progressivement pour devenir intense, comme dans la vase naturelle, après 3 à 4 mois. On a eu soin de contrôler la pureté de la culture dans les tubes noircis par l'examen microscopique et par des ensemencements.

Nous nous trouvons donc en présence d'un microbe qui est capable de noircir la vase grise de la mer et nous le possédions en culture pure.

Lorsque notre étude fut plus avancée, nous avons découvert une propriété des microbes du noircissement qui nous a permis de les isoler facilement. Dans les milieux additionnés d'une trace de citrate de fer ou de sulfate ferreux, il se produisait une intense coloration noire à l'endroit où se développait une colonie de ces microbes ; elle se produisait souvent assez tardivement, après 5 à 6 jours, alors que la colonie était parfaitement développée.

Nous avons aussi recherché les microbes du noircissement en opérant un peu différemment.

Un tube de vase grise additionnée d'un peu de bouillon est stérilisé et ensemencé avec une parcelle de vase noire ; puis, il est mis en culture anaérobie par la méthode de Buchner ; on le porte à l'étuve à 30°. Lorsque la vase est devenue noire, on ouvre et on examine au microscope. Nous trouvons une culture presque pure d'un microbe analogue à celui que nous avons isolé précé-

demment. Nous l'isolons par la méthode des tubes roulés anaérobies.

A l'aide des cultures de ce microbe, nous pouvions reproduire le noircissement de la vase grise stérilisée. C'est lui que nous avons employé pour toutes nos recherches ultérieures. Il provient d'un échantillon de vase qui nous a été remis par M. Gilson et qui a été prélevé dans une position notée 1812 dans ses mémoires. (1)

3. Quelle est la substance qui donne la coloration noire à la vase ?

Tous les auteurs qui ont étudié les vases noirs ont attribué sa coloration à la présence de sulfure de fer ; mais, à notre connaissance, ce fait n'a jamais été scientifiquement établi. Nous avons étudié cette question en faisant l'analyse de la vase et en la conduisant de façon à déterminer ce point spécial. Mais elle est plus difficile qu'elle le paraît à première vue.

L'analyse qualitative de la vase noire nous a révélé la présence des métaux suivants : Aluminium, Magnésium, Potassium, Sodium, Fer et Calcium, et des acides minéraux suivants : acide chlorhydrique, sulfurique, phosphorique, silicique, sulfureux, sulfhydrique et carbonique.

Cette analyse a porté sur environ 5 gr. de substance. Il est probable qu'en opérant sur de plus grandes quantités on trouverait des *traces* d'autres métaux et acides, mais cela n'a pas d'importance dans le cas présent.

La présence d'acide sulhydrique attira notre attention, puisqu'il existe plusieurs sulfures qui sont des corps noirs. Nous avons fait la recherche de l'hydrogène sulfuré dans la vase grise et nous n'avons pu en trouver trace. Nous étions donc assurés qu'il existe des sulfures dans la vase noire et qu'ils sont absents dans la vase grise et dès lors il était *probable* que la coloration noire était due à un sulfure.

1. Nous ne sommes pas absolument assurés d'avoir isolé le microbe qui produit le phénomène naturel. On verra que nous faisons des réserves sur ce point plus tard.

Quel est le sulfure noir qui se trouve dans la vase ? Nous savons que les sulfures noirs sont ceux de Pb, Hg, Cu, Au, Ag, Pt et Fe. Parmi ces corps, on ne trouve que le Fe dans la vase et il s'y trouve en abondance. Le dosage de ce corps nous a donné une proportion de 6,30 % calculé en Fe_2O_3 et rapporté à la vase sèche.

Le sulfure de fer est le seul des sulfures noirs qui soit soluble dans l'acide chlorhydrique.

La coloration noire de la vase doit donc être vraisemblablement attribuée à la présence de sulfure de fer.

Sous quelle forme existe-t-il dans la vase ? Il est probable que c'est le sulfure ferreux insoluble (FeS) ou l'hydrosulfure, qui peut se rencontrer à l'état insoluble ou à l'état soluble avec une coloration noir-verdâtre.

4. Explication biologique du phénomène.

On sait que certaines substances peuvent donner une production d' H_2S , dans des conditions déterminées, sans l'intervention de microorganismes. Citons quelques exemples : l'albumine de l'œuf donne à l'ébullition pure et simple 0,1 % d' H_2S . Le soufre se transforme en acide sulfhydrique au contact de certains corps organiques facilement décomposables : le sang, le blanc d'œuf, le jaune d'œuf et l'extrait de levure (Rubner : *Unters. der Schwefelwasserstoffbildung bei Bakterien* ; *Archivf. (Hyg., Bd. XVI, 1892, p. 58 et 78)*). L'ébullition de l'eau contenant en suspension de la fleur de soufre donne lieu à un dégagement d' H_2S avec formation d'acide sulfureux (Cross et Higgins : *Chemical News*, vol. XXXIX, 1875, p. 136). Il est possible que l'on n'ait pas toujours suffisamment distingué la production d' H_2S par les substances organiques elles-mêmes de celle due à l'intervention des microbes.

Comment se forme l' H_2S d'origine biologique ?

M. Miquel a étudié, pendant les années 1879-89, un bacille, qu'il a appelé *Bacillus sulfhydrogenus*, qui produisait de l'hydrogène sulfuré. C'était un bacille à articles très courts et très grêles. Il pouvait être cultivé dans les liqueurs minérales, dans l'urine,

les liqueurs albumineuses, et il se montrait capable de déterminer la fermentation sulfhydrique dans tous les milieux où il trouvait à sa disposition du soufre à l'état de liberté ou du soufre combiné à des matières plastiques. Il ne s'attaquait jamais aux sulfates métalliques, notamment aux sulfates alcalins et alcalino-terreux. M. Miquel expliquait ainsi le mécanisme de la production d' H_2S : certains microorganismes sont capables d'hydrogéner puissamment le soufre libre et celui qui entre dans la constitution des matières albuminoïdes ; la présence d'hydrogène sulfuré que l'on constate dans les liquides putréfiés serait due, pense l'auteur, le plus souvent à l'action de l'hydrogène naissant, dégagé par le microbe sur le soufre mis en liberté au moment de la destruction de la molécule complexe de l'albumine. Cependant M. Miquel put obtenir de l' H_2S quand les milieux renfermaient des sels minéraux peu stables comme les hyposulfites et cela en l'absence du soufre libre ou combiné aux substances albuminoïdes. Il explique ainsi cette production : les acides organiques ajoutés à dessein aux liquides nutritifs ou résultant de l'action des bactéries, tels que les acides lactique, butyrique, acétique, etc., sont assez puissants pour décomposer à froid les hyposulfites et donner naissance à du soufre, lequel est hydrogéné à l'état de corps simple. Si on empêche cette précipitation en maintenant le liquide dans un léger état d'alcalinité, la précipitation du soufre ne se produit pas et l'on n'observe pas de production d' H_2S .

Quand le milieu, où s'effectue l'hydrogénation du soufre, est alcalin ou le devient par suite de phénomènes biologiques s'accomplissant parallèlement (NH_3 par exemple), l'hydrogène sulfuré se combine à l'alcali et il se forme des sulfures. La production de sulfhydrate d' NH_3 peut s'accomplir sans l'addition préalable d'aucun alcali et sous l'action unique des bactéries. Les microbes de la putréfaction produisent tous de l'ammoniaque.

Plus récemment, M. Beijerinck a constaté la production d' H_2S par les microorganismes aux dépens du S libre, dans des liquides en décomposition avancée, dans une solution de sucre ferment-

tant activement sous l'influence de la levure alcoolique, ou en ensemençant les milieux avec de l'eau de fossé ou un peu de terreau. Il a proposé la création du genre *Aërobacter* pour grouper les bactéries productrices d'acide sulfhydrique aux dépens des corps albuminoïdes, du soufre, des sulfites et des thiosulfates.

M. Holschewnikoff et d'autres auteurs ont signalé des microbes producteurs d' H_2S et ils attribuent sa formation soit à la destruction des matières albuminoïdes soit à la réduction des sulfates ou des hyposulfites.

M. Beijerinck oppose à la théorie de l'hydrogène naissant que la présence d'hydrogène libre n'a pas été montrée dans des cellules productrices d'acide sulfhydrique, comme par exemple la levure alcoolique. Mais alors sur quel phénomène chimique cette transformation repose-t-elle ?

Voici comment répond M. Beijerinck à cette question. « C'est ce qui n'est pas encore clair, dit-il. Il faut admettre qu'un peu de soufre se dissout dans le liquide en fermentation et pénètre à l'état dissous dans la cellule de levure ou le corps bactérien. Il n'est assurément pas permis de supposer que la transformation du soufre a lieu en dehors des cellules. L'hydrogène libre, qui se rencontre dans les cultures d'*Aërobacter*, ne peut jouer un rôle dans le processus ; cela est précisément exclu par l'expérience avec la levure alcoolique en culture pure, puisque l'hydrogène libre y fait complètement défaut. »

De sorte que M. Beijerinck admet que la formation biologique d'acide sulfhydrique et des sulfures peut s'accomplir de deux façons.

1. Aux dépens du soufre libre, des albuminoïdes sulfurées, des sulfites et hyposulfites.

2. Par la réduction des sulfates.

La production sulfhydrique par le premier mode peut être due à un grand nombre d'organismes, tandis que la réduction des sulfates est le propre d'un seul agent spécifique : le *Spirillum desulfuricans*. Il joue un rôle important dans la production des sulfures

de la nature ; le rôle des autres formes serait secondaire.

Ces faits ont été très bien établis par les travaux de M. Beijerinck.

Nous n'avons pu, jusqu'ici, pénétrer entièrement le phénomène naturel ; nous nous bornerons à signaler quelques faits que nous avons pu observer :

a) Nous avons déjà dit plus haut que la vase noire présente souvent une odeur sulfhydrique lorsqu'on la retire de la mer.

Nous avons constaté que notre microbe produisait de l' H_2S sur certains milieux (bouillon peptonisé), mais en très petite quantité ; on décèle sa présence à l'aide de papier imbibé d'acétate de plomb, ou d'une bande de papier trempée dans une dissolution alcaline d'oxyde de plomb dans la potasse.

b) Lorsqu'on ajoute une trace de citrate de fer aux milieux de culture, après 3-4 jours, il se produit une forte coloration noire qui ne peut être due qu'à du sulfure de fer. Le noircissement était beaucoup plus rapide (après 4-5 heures) lorsqu'on ajoutait la solution stérile de citrate de fer à une culture sur milieu solide en plein développement. On sait que H_2S transforme directement les sels organiques de fer en sulfures.

c) La même coloration noire se produit également si on additionne les milieux de culture d'une trace de sulfate ferreux ou ferrique. La coloration noire se produit après 5-6 jours lorsque le microbe est en plein développement. La coloration se manifeste après 4-5 heures, lorsqu'on ajoute la solution stérile de sulfate à une culture bien développée.

Comment faut-il expliquer cette production de sulfure ferreux aux dépens des sulfates ? Est-elle due à une réduction du sulfate ou bien faut-il admettre, comme M. Miquel, que l' H_2S se forme aux dépens des matières albuminoïdes contenues dans le milieu de culture et s'unit à l' NH_3 que produit en même temps le microbe pour nous donner du sulfhydrate d'ammoniaque, lequel peut transformer les sulfates en sulfures ?

Ces deux modes sont possibles. Toutefois nous pensons qu'en

mer, le phénomène du noircissement de la vase (production de Fe S) doit s'expliquer par la réduction des sulfates, car il est probable que les microbes ne trouvent pas, dans la destruction des matières albuminoïdes, du soufre libre en quantité suffisante pour produire cette abondante quantité de sulfure.

Nous nous abstenons cependant d'émettre un avis sur cette question pour le moment, parce que nous avons entrepris une série d'expériences qui nous permettront, pensons-nous, de la résoudre.

5. Transformation de la vase noire en vase grise. — Nous avons vu plus haut que la vase noire se transforme rapidement en vase grise lorsqu'elle se trouve en contact avec l'air ou l'eau chargée d'oxygène. La transformation est instantanée lorsqu'on la mélange à de l'eau oxygénée ou d'autres agents oxydants.

Cette transformation est facile à expliquer : elle est due à une oxydation du sulfure ferreux qui passe à l'état de sulfate. Nous avons trouvé des quantités variant de 0,5 à 1 % (en SO_3) de sulfates solubles.

L'eau de mer renferme de l'oxygène en solution, aussi trouve-t-on constamment une couche de vase grise à la surface de la vase noire.

5. Caractères généraux du microbe étudié. Tout d'abord se pose la question de savoir s'il n'y a qu'un seul microbe capable de produire ce phénomène ou s'il y en a plusieurs.

Les recherches que nous avons relatées plus haut ont été faites sans tenir compte de cette considération. Nous avons trouvé un microbe qui noircissait la vase grise stérilisée et nous en avons fait l'étude ; nous n'avons pas d'autres prétentions pour le moment. Le microbe qui a surtout servi à nos expériences a été isolé de la façon suivante dans un échantillon de vase noté 1812 par M. Gilson et dont on trouvera le relèvement exact dans ses mémoires : de la vase grise, additionnée d'un peu de bouillon et stérilisée, avait étéensemencée avec une trace de vase noire ; puis le tube avait été enfermé dans un plus grand muni de pyro-

gallate de K. Après environ 1 mois de développement à l'étuve, alors que la vase était en plein noircissement, on a isolé les microbes à l'aide de tubes roulés en culture anaérobie. L'examen microscopique nous avait révélé l'existence, en abondance, d'un bâtonnet, auquel il nous paraissait naturel d'attribuer le phénomène du noircissement. On ne voyait dans la culture que quelques coques, streptocoques et des gros bâtonnets bien différents de celui qui s'y trouvait en grande quantité ; les autres paraissaient ne s'y trouver qu'à l'état d'impuretés. Ensemencés sur de la vase grise stérilisée, les autres microbes isolés ne changèrent pas sa coloration.

Nous avons rencontré des microbes noircissant la vase grise, qui provenaient d'une vase prélevée à d'autres endroits et qui paraissaient se comporter un peu différemment de celui que nous étudions en ce moment: leur taille était plus grande et ils ne noircissaient pas la vase en commençant par le fond, mais par la surface.

Les microbes qui sont doués de propriétés sulfurantes et réductrices sont assez abondants dans la nature. Il ne serait nullement étonnant de rencontrer plusieurs espèces capables de réduire énergiquement les sulfates dans certaines conditions et de noircir la vase grise de la mer. Il importe également de remarquer que le *Spirillum desulfuricans* de M. Beijerinck agit plus énergiquement que l'espèce étudiée par nous. Il nous a donc paru prudent de réserver cette question et nous nous sommes proposé de faire une étude comparative des différentes espèces microbiennes que l'on rencontre dans la vase marine. Cette étude est sur le métier. Nous en publierons les résultats ultérieurement. En attendant, nous allons décrire sommairement les principaux caractères du microbe que nous avons isolé.

Nous ne parlerons pas de son identité ni de sa parenté avec les espèces connues. Ces considérations viendront mieux à point plus tard. Les caractères morphologiques de notre microbe étant peu distincts, nous nous sommes appliqués surtout à l'étude de ses propriétés physiologiques.

Le microbe du noircissement est un bâtonnet. Sur les milieux liquides, il est mobile et il présente des mouvements flexueux. Il est généralement muni de spores à ses extrémités. Il forme des chaînettes composées de 2, 3, 4, 5 et 6 articles.

Il se développe très bien sur le bouillon ordinaire, neutre ou alcalin, le bouillon additionné de glycérine, le bouillon gélatiné alcalin, le bouillon gélosé additionné ou non de glucose et de glycérine, le lait stérile, l'eau peptonisée, et des milieux spéciaux employés pour étudier ses propriétés.

Il liquéfie la gélatine après 4-5 jours. Il est anaérobie facultatif. Il se développe bien à la température ordinaire, mais son développement est plus rapide à l'étuve à 30° ou 35°.

La réaction de sa culture sur bouillon reste alcaline.

Le microbe du noircissement produit de l'indol (réaction de Nencki) sur l'eau peptonisée. On sait que la production de cette substance résulte de la destruction des matières protéiques.

En culture sur le bouillon ordinaire, il dégage de l'hydrogène sulfuré sensible au papier à l'acétate de plomb. Lorsqu'on additionne les milieux d'une trace de citrate de fer, il transforme celui-ci en sulfure ferreux.

En culture sur du bouillon additionné de sulfate ferreux ou ferrique, il transforme ces corps en sulfure ferreux. Il réduit également le nitrate de K en culture sur de l'eau peptonisée. Ce microbe est donc doué de propriétés réductrices bien manifestes.

Lorsqu'on le cultive sur du lait stérile, il le coagule, mais il ne redissout pas la caséine précipitée en grande quantité; cette coagulation a lieu, sans augmentation de l'acidité, par la sécrétion d'une présure. Il ne fermente pas les hydrates de carbone : glucose, lactose, dextrose, dextrine, saccharose.

Il se colore très bien par le violet de gentiane et le bleu de Kühne, moins bien par la fuchsine de Ziehl. Il prend la coloration de Gram appliquée par la méthode de Gram-Claudius.

Comme on le voit, nous sommes donc en possession d'excellents caractères de ce microbe. Peut-être a-t-il quelque analogie

avec celui qui a été isolé par M. Zelinsky dans la vase de la Mer noire. Il ne nous est pas possible de le dire en ce moment.

BIBLIOGRAPHIE.

1. P. MIQUEL : *Biogénèse de l'hydrogène sulfuré* ; Ann. de Micrograph., T I, 1888-89, p. 323 et 364.
2. HOLSCHERNIKOFF : *Sur la formation de l'hydrogène sulfuré par les bactéries* ; Id, p. 257.
3. M. W. BEIJERINCK : *Le Spirillum desulfuricans*, agent de la réduction des sulfates ; Archives Néerlandaises, T. XXIX, p. 233-277.
4. W. BEIJERINCK : *Sur la formation de l'hydrogène sulfuré dans les canaux et le genre nouveau Aërobacter* ; Archiv. Néerlandaises des sciences exactes et naturelles, 1900.
5. P. ET C. G. FRANCKLAND : *Microorganisms in water*, 1894, p. 458, avec un résumé du travail de Zelinsky par le PRINCE KRAPOTKIN, sur la fermentation sulfhydrique dans la Mer noire et les « Limans » d'Odessa.

LE FUMAGE DE L'ESPROT

PAR

23606 LE DR. M. HENSEVAL.

Le fumage de poisson a pour but d'en prolonger la conservation. Il diminue sa teneur en eau et il l'imprègne de substance possédant un pouvoir antiseptique élevé. En outre, il lui communique un fumet spécial qui est très recherché par certaines personnes.

On fait, en Belgique, une pêche importante d'esprot. Une partie est préparée en sardine, une autre est transformée en guano, après en avoir extrait l'huile, et une petite quantité est fumée. La majeure partie de l'esprot fumé que l'on consomme en Belgique nous vient de l'Angleterre et même de l'Allemagne et de la Hollande. Le produit anglais a la réputation d'être bien supérieur à tous les autres et il se vend toujours un prix beaucoup plus élevé.

Le fumage de l'esprot est une des utilisations les plus lucratives. Ces considérations nous ont engagé à en faire une étude méthodique pour en préciser les conditions de préparation. Les nombreux essais qui ont été faits l'année dernière et cette année nous ont donné un résultat satisfaisant. Nos produits ont été examinés par des connaisseurs qui ont déclaré que notre esprot fumé n'était en rien inférieur au meilleur produit qui nous vient d'Angleterre.

Nous avons pensé qu'il y aurait peut-être quelque utilité à faire connaître en détail notre façon d'opérer. La description se rapporte au matériel qui a été employé pour nos essais et qui est à la disposition des intéressés.

1. *Triage et nettoyage du poisson.* Il faut d'abord trier le poisson et éloigner les plus petits. Puis on les lave à grande eau en agitant énergiquement avec une brosse pour faire tomber les écailles peu adhérentes et enlever le sang caillé.

2. *Salage.* Il se fait à l'aide d'une saumure très concentrée, dont nous avons reconnu que le degré de concentration le plus favorable était 15 % environ ; on y ajoute 1/2 kgr. de sucre, une poignée de thym, de laurier et de poivre.

On laisse séjourner les poissons dans cette solution pendant 1 heure.

Elle peut servir plusieurs fois, 5 ou 6 fois ; on la change lorsqu'elle est sale.

Ensuite on lave le poisson salé dans un récipient à grande eau, puis on le met égoutter sur des claies en bois.

3. *Séchage.* On suspend les poissons sur des baguettes en fer galvanisé : on passe la baguette en-dessous de l'opercule gauche et on la fait ressortir par la bouche. De cette façon, ils sont solidement suspendus et ils ont tous la même direction.

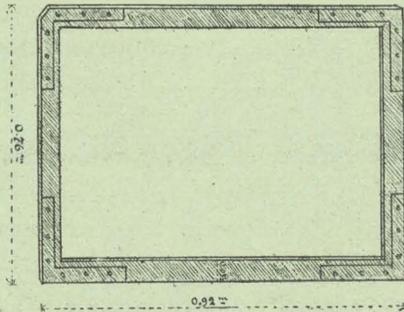


Fig. 1.

Nos baguettes ont une longueur de 72 centimètres.

On peut mettre 20-22 poissons sur une baguette. Les baguettes chargées sont déposées sur des cadres au fur et à mesure de leur préparation ; on peut en mettre 24 à 26 sur un cadre.

Il faut éviter soigneusement que les poissons se touchent, car alors il resterait des taches blanchâtres aux endroits où la fumée n'aurait pu pénétrer, ce qui donnerait un aspect désagréable au poisson.

Les cadres portant les baguettes chargées sont déposés sur

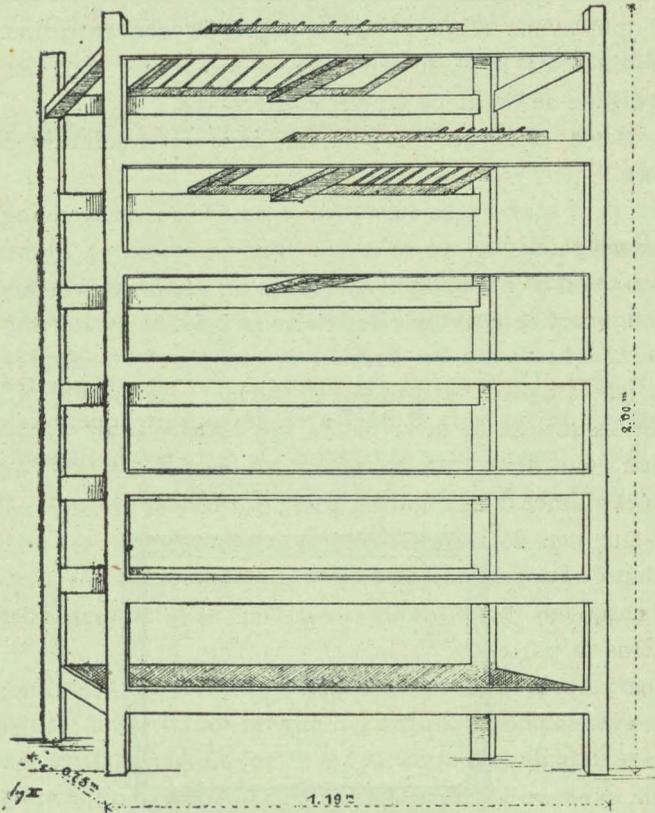


Fig. 2. Séchoir pour le séchage à l'air libre

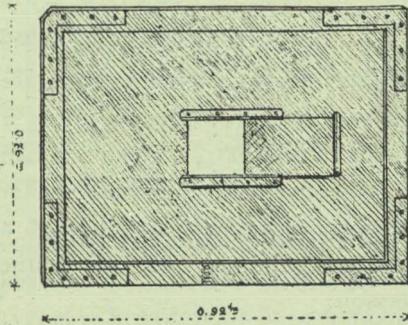


Fig. 3.

un séchoir du modèle de la figure 2 que l'on expose au grand air lorsqu'il fait beau temps. On peut faire le séchage dans un séchoir méthodique avec aéro-condenseur, mais il faut alors disposer d'une grande installation.

Le séchage à l'air libre dure généralement 3 heures, suivant les conditions atmosphériques.

4. *Fumage proprement dit.* Lorsque le poisson est suffisamment sec, on introduit les cadres dans le four et on allume le feu.

La figure 4 représente le modèle du four qui a servi à nos essais. C'est une simple cheminée dont les dimensions sont indiquées sur la figure, portant sur les côtés 8 paires de barres de fer sur lesquelles on peut placer les cadres. Le four est fermé en avant par deux grandes portes en fer, mobiles sur des charnières et munies d'un regard à leur milieu. En bas, se trouve une porte que l'on déplace à l'aide de deux poignées. On aura soin, au début de l'opération, de ne pas laisser la température s'élever trop brusquement ; on peut la régler très bien en ouvrant plus ou moins la porte, ou en la fermant. Elle peut s'élever jusque 80° à 90°. Après une heure le poisson est cuit. On couvre alors le feu avec la sciure de bois de chêne et on évite de le laisser rallumer. Dès que l'on voit une flamme quelque part, on la couvre de suite avec de la sciure. La température baisse rapidement ; on tâche de la maintenir aussi basse que possible : entre 25° et 28°.

Pour éviter une trop grande déperdition de fumée, on place, en haut du four sur la dernière rainure, une cloison en fer percée d'une petite porte, dont on peut augmenter ou diminuer l'ouverture à volonté (fig. 3).

Après une heure, les poissons sont fumés : ils ont perdu une grande partie de leur eau et ils ont pris une belle couleur jaune d'or. Ils possèdent un goût et un arôme spéciaux qui plaisent beaucoup à certaines personnes. Cette méthode de fumage donne des poissons fumés dont le goût spécial n'est pas trop prononcé. Si l'on veut accentuer le goût de fumé, il faut prolonger la durée

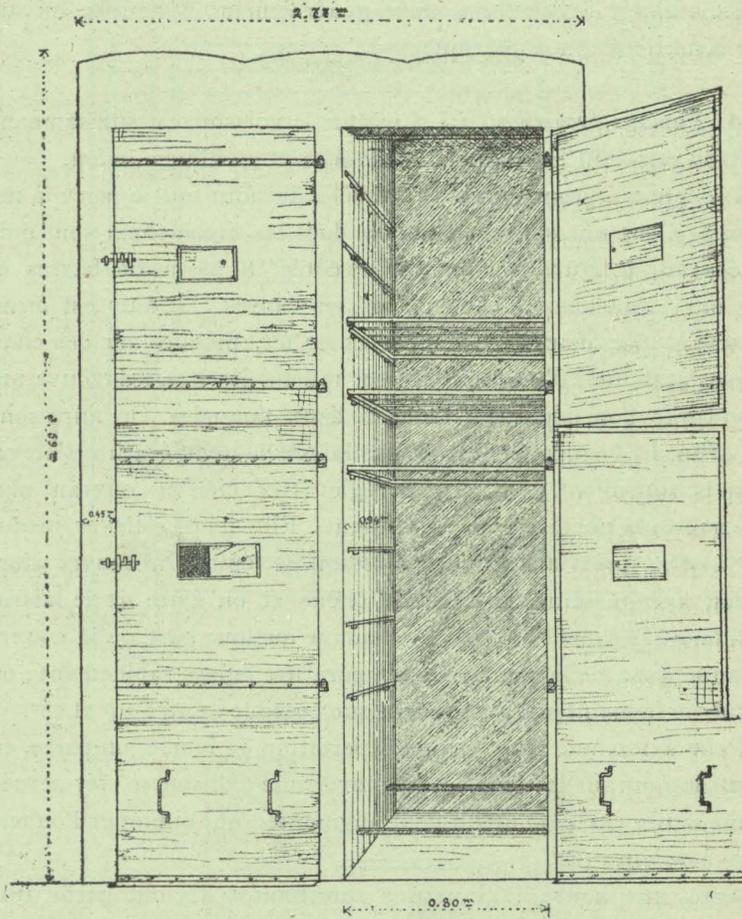


Fig 4. Four à fumer le poisson.

d'exposition à la fumée froide. Certaines personnes les mangent comme tels ; d'autres les préfèrent grillés.

On peut les livrer au commerce de deux façons :

1° Comme tels, en les vendant au poids ou dans de petites caisses de 1 à 5 kgr.

L'esprot fumé de cette façon se conserve généralement pendant 15 jours à 3 semaines. Après ce temps, il perd son goût spécial et il se dessèche. D'autres fois, il est attaqué par des moisissures ou il pourrit. Cela arrive quand il n'a pas été suffisamment séché pendant le fumage.

Pendant le fumage, il perd 30% d'eau : 100 kgr. d'esprot frais donnent 70 kgr. d'esprot fumé.

2° On peut mettre l'esprot fumé en conserves : on le met en boîtes avec l'huile et on le stérilise à l'autoclave. Préparé de cette façon, il peut se conserver indéfiniment. Toutefois il ne conserve pas un goût aussi fin que quand il est fraîchement fumé, mais il est possible de cette façon de consommer de l'esprot fumé hors la saison où on le pêche. Cette conserve est certainement supérieure à l'esprot préparé en sardine.

On peut employer de l'huile d'olive, de l'huile d'arachide, ou encore de l'huile d'esprot comme nous l'avons fait l'année dernière.

Nous avons fait de nombreuses expériences à ce sujet et des dégustateurs exercés n'ont pas pu distinguer les boîtes qui avaient été faites avec de l'huile d'esprot de celles faites avec de l'huile d'olive de qualité supérieure.

A quelle température faut-il stériliser les boîtes ?

Un chauffage trop prolongé altère le poisson : il perd son goût de fumé et il se désagrège. Il faut donc le restreindre dans la mesure du possible. D'après les expériences que nous avons faites, la stérilisation dans la vapeur à 110° pendant 30 à 35 minutes suffit amplement.

L'esprot fumé mis en boîtes à l'huile peut se conserver un certain temps sans avoir été stérilisé, 3 à 6 mois et même beau-

coup plus longtemps ; cela dépend du degré de dessiccation qu'il a subi pendant le fumage ; mais des dégustateurs ont trouvé la qualité du produit stérilisé supérieure à celle du produit non stérilisé.

Cette conserve n'existe pas dans le commerce. Nous sommes persuadé qu'elle pourrait avoir un avenir sérieux. Elle constitue une utilisation très avantageuse sur laquelle nous attirons l'attention des intéressés.

CONTRIBUTION
A L'ÉTUDE DU PRINCIPE

ODORANT DE

L'HUILE D'ESPROT ET DE L'HUILE DE FOIE DE MORUE

PAR

LÉON SERVAIS
DOCTEUR EN SCIENCES.

23607

La littérature chimique n'est pas bien riche en données sur la nature et sur l'origine du principe odorant des huiles de poisson. Les ouvrages spéciaux que nous possédons sur ces huiles constatent qu'elles se font remarquer par une odeur spéciale dite odeur de poisson : ainsi Lewkowitsch dans son magistral ouvrage sur l'analyse des huiles s'exprime ainsi : « These oils are characterised by the fishy taste and smell. » (1)

Ayant été chargé d'entreprendre une étude sur la désodorisation rationnelle des huiles de poisson, j'ai cru qu'il était nécessaire d'avoir au moins quelques indications sur la nature et sur l'origine du produit qu'il s'agissait de faire disparaître.

Au cours de mes recherches qui ont porté sur l'huile d'Esprot (2) et sur l'huile de foie de morue, j'ai été amené à faire quelques constatations que je crois intéressant de signaler. Je relaterai dans leur ordre successif les expériences que j'ai faites, puis j'indiquerai les conclusions que je crois pouvoir en tirer.

I. EXPÉRIENCES FAITES SUR L'HUILE D'ESPROT.

1. 500 grammes d'huile d'esprot ayant séjourné quelque temps à l'air ont été traités par un courant de vapeur d'eau à 100° pour entraîner les produits volatils.

Le distillatum possédait une odeur sui generis exhalant avec exagération l'odeur de poisson. Partant de cette idée que beau-

(1) Lewkowitsch : Analysis of oils, fats and waxes.

(2) Huile extraite du *Clupea Sprottus* abondant sur nos côtes.

coup d'aldéhydes sont des produits odorants — soit dans le bon, soit dans le mauvais sens —, j'y ai recherché si je n'étais pas en présence de corps possédant cette fonction.

Le distillat total a été filtré et ainsi séparé en deux parties :

1° Une partie insoluble (A) restant sur le filtre ; elle a été soigneusement lavée à l'eau chaude.

2° Une solution (B) provenant de la filtration et des eaux de lavage.

A et B ont donné une coloration rouge avec la fuchsine décolorée et réduit le AgNO_3 ammoniacal. (1)

La solution B ne possédait plus qu'une odeur légèrement piquante ; elle a été exactement neutralisée, redistillée et extraite par l'éther.

L'éther a été chassé au bain d'eau, mais il n'est rien resté dans le ballon distillatoire, quoique cependant la couche aqueuse résultant de l'extraction eût perdu toute son odeur.

Ce fait ne peut s'expliquer qu'en admettant que l'aldéhyde en question avait un point d'ébullition fort bas et avait été entraînée avec l'éther.

J'ai tout lieu de croire que ce produit est de l'acroléine (éb. 52°) dont la présence est suffisamment attestée par son odeur piquante caractéristique et qui n'y existait d'ailleurs qu'à l'état de trace, vu qu'aucune précaution n'avait été prise pour refroidir fortement le distillatum total.

La partie insoluble A présentait une odeur écœurante, tout à fait sui generis.

Elle a été dissoute dans l'éther et traitée par une solution concentrée de NaHSO_3 en agitant vigoureusement pendant quelques heures.

(1) Préparation de ces réactifs :

a) AgNO_3 ammoniacal : mélange à volumes égaux d'une solution à 10 % de AgNO_3 dans de l' NH_3 à 10 %, et d'une solution de NaOH à 10 %.

b) Fuchsine décolorée.

Pour préparer ce réactif, on prend de la fuchsine aussi pure que possible ; on en fait une solution à 1 pour 500 et on y fait passer lentement du gaz SO_2 jusqu'à décoloration complète. Un excès de SO_2 est à éviter.

La solution bisulfite distillée avec une solution concentrée de Na_2CO_3 m'a fourni une petite quantité d'une huile, insoluble dans l'eau, rougissant intensément la fuchsine décolorée, réduisant le AgNO_3 ammoniacal et se transformant sous l'action de NaOH en une matière résineuse. Ce produit brut soumis à la distillation, sous pression ordinaire, passait en se décomposant vers 125° à 130° ; Son odeur absolument spéciale domine dans l'huile.

On la retrouve quand on détermine l'insaponifiable de l'huile, mais en plus petite quantité, car une partie est résinifiée lors de la saponification.

Je compte mettre en œuvre de grandes quantités d'huile pour obtenir un poids de ce produit suffisant pour en faire une étude sérieuse.

La solution étherée contenait des acides volatils insolubles, parfaitement inodores.

Ces acides étaient non saturés, car ils décoloraient instantanément le brôme en solution acétique.

II. 50 grammes d'huile d'esprot ont été saponifiés par la méthode ordinaire et les acides gras ont été soigneusement lavés à l'eau chaude.

Ces acides gras s'oxydent avec une telle facilité qu'il est impossible de les obtenir directement exempts de produits d'oxydation.

Les deux réactifs y décèlent d'une façon intense l'existence de composés aldéhydiques.

Le traitement par la solution de NaHSO_3 m'a conduit aux mêmes constatations que pour l'huile elle-même et les acides résultant de ce traitement, en chassant la dernière moitié de l'éther dans le vide, ont perdu leur mauvaise odeur.

Lors de l'oxydation de ces acides par KMnO_4 en solution alcaline, il se reforme des composés aldéhydiques.

III. Ayant séparé les acides en deux groupes :

1° Ceux dont les sels de Zn sont solubles dans CS_2 ,

2° Ceux dont les sels de Zn sont insolubles dans CS_2 ,

J'ai pu constater que l'oxydation des premiers est tellement rapide qu'au bout de quelques minutes d'exposition à l'air ils se recouvrent d'une pellicule blanchâtre. Cette pellicule a été soigneusement lavée, elle se montre insoluble dans l'éther, l'alcool froid et le mélange des deux.

L'alcool chaud seul la dissout. Après de multiples lavages à l'éther, elle se colore en rouge foncé par la fuchsine décolorée. Peut-être est-ce un polymère du produit aldéhydique mentionné plus haut ?

IV. Il résulte des travaux du chimiste norvégien H. Bull que la plupart des huiles de poisson renferment pour une partie notable de leur poids des glycérides d'acides fortement non saturés ($C_n H_{2n-8} O_2$ et $C_n H_{2n-10} 10 O_2$) (1). Bull a indiqué une méthode de dosage de ces acides dans les huiles de poisson; l'ayant appliquée à l'huile d'esprot, j'ai constaté qu'elle en renfermait 16.25 %.

Voici le détail de cette détermination :

10 grs. d'huile d'Esprot ont été traités par 35 c³ d'une solution normale de $NaOC_2 H_5$. On munit le ballon d'un long tube servant de réfrigérant et on chauffe une demi heure au bain-marie.

Après un repos de 3 heures, nécessaire pour laisser cristalliser le savon dans l'alcool, on divise la masse avec une spatule et on ajoute de l'éther bien sec jusqu'au trait 250, on agite et laisse digérer 2 heures.

Après ce temps, on jette sur un filtre plat placé sur un entonnoir sur lequel se trouve une plaque de verre rodée au préalable avec l'entonnoir lui-même, on laisse filtrer la nuit, le matin suivant, on prélève 150 c³ de la liqueur étherée; ce volume correspond à 6 grs d'huile.

La liqueur étherée primitive est traitée par 35 c³ d'eau et l'on décante la partie aqueuse que l'on recueille à part.

La portion étherée est alcalinisée par $NaOH$ en présence de phénolphtaléine pour éviter la formation de sels acides, agitée avec 35 c³ d'eau et de nouveau décantée.

Les solutions aqueuses contenant les acides à l'état de sel sont réunies entre elles.

(1) $C_{20}H_{36}O_2$, $C_{24}H_{40}O_2$, $C_{23}H_{36}O_2$ —

La liqueur étherée contient l'insaponifiable, on en chasse l'éther au bain d'eau, dessèche dans le vide et pèse. Le poids trouvé correspond à l'insaponifiable pour 150 c³ de liqueur étherée ou 6 grs d'huile.

La solution aqueuse contenant les acides à l'état de sel de Na et un excès d'alcali est traitée par 30 c³ d'alcool à 94 % et neutralisée par HCl dilué

a) en présence de phénolphtaléine pour saturer l'alcali libre,

b) en présence de tournesol jusqu'au rouge vif pour saturer les sels sodiques.

On extrait ensuite deux fois par l'éther, chasse l'éther au bain d'eau, dessèche dans le vide et pèse ; poids obtenu 0,9746 pour 150 c³ ou 6 grs d'huile.

Je ferai toutefois remarquer que les acides isolés en appliquant cette méthode ne sont pas purs, ils sont toujours souillés de produits aldéhydiques qui se trahissent par les deux réactions citées plus haut.

II. EXPÉRIENCES FAITES SUR L'HUILE DE FOIE DE MORUE.

I. 50 grs d'huile de foie de morue extraite de foies frais (1) et conservée à l'abri de toute oxydation ont été traités par un courant de vapeur d'eau et le distillatum recueilli jusqu'à ce que environ 100 c³ fussent passés : le liquide possédait une odeur fort peu prononcée.

Traité par la fuchsine décolorée, il ne donna pas la coloration rouge caractéristique.

Le AgNO₃ ammoniacal ne se réduisit pas non plus ; c'est tout au plus si la liqueur se teinta légèrement après quelques heures.

Ainsi donc, l'huile de foie de morue, préparée avec soin et rapidité et immédiatement mise en récipients bien fermés, ne donne pas la réaction aldéhydique : preuve d'une absence d'oxydation.

La même huile exposée quelques jours à l'air donne les deux réactions d'une façon très intense.

J'ai traité de la même façon une huile brune commerciale et la fuchsine a rougi intensément (5 c³ à environ 100 c³ de distillat). La coloration s'accroît petit à petit et atteint son maximum au bout de 5 minutes.

(1) L'huile de foie de Morue extraite immédiatement de foies enlevés aux poissons dès qu'ils ont été pêchés est à peu près inodore.

Cet essai est un moyen bien simple de s'assurer :

1° Si une huile de foie de morue a été faite avec des matériaux frais ;

2° Si elle a été faite avec tous les soins exigés pour cette opération délicate.

L'absence d'oxydation en est un criterium certain.

Les expériences II et III mentionnées pour l'huile d'esprot ont été reproduites avec de l'huile de foie de morue et j'ai pu observer les mêmes faits.

Comme confirmation de la présence spécifique de composés aldéhydiques, je rappellerai encore la coloration brune, vraiment caractéristique, qui se manifeste en traitant ces huiles par la soude ou la potasse caustique.

Cette coloration est d'autant plus intense que l'huile est plus oxydable ; ainsi pour l'huile d'esprot et l'huile de hareng, toutes deux beaucoup plus sensibles à l'action de l'oxygène de l'air que l'huile de foie de morue, elle atteint presque le noir.

Elle se manifeste dans toute son intensité quand on prend l'indice de saponification de ces huiles.

Je rapproche cette coloration de la coloration brune que donnent dans les mêmes conditions le sucre glucose, l'éthanal, etc..., en un mot les aldéhydes d'une façon générale.

CONCLUSIONS :

1° Les corps qui donnent l'odeur à ces huiles sont principalement des produits de nature aldéhydique.

2° Ils résultent de l'action de l'O de l'air sur les acides gras des glycérides non saturés que ces huiles renferment.

ÉTUDE
SUR
L'ESPROT ET SON HUILE.

PAR
M. HENSEVAL
DOCTEUR EN SCIENCES.

23608

L'esprot fait l'objet d'une pêche très importante sur tout le littoral belge : à la Panne, Nieuport, Ostende, Blankenberghe et à l'embouchure de l'Escaut. Il y a eu des tentatives fréquentes en Belgique d'exploitation de ce poisson, mais on ne peut pas dire qu'elles furent couronnées de grands succès ; plusieurs durent même être abandonnées. La quantité d'esprot, pêchée par année sur la côte belge, est considérable, mais il nous est impossible de la chiffrer, car ce poisson fait l'objet d'un commerce spécial et il ne se vend pas à la minque. L'usine Excelsior d'Ostende en travaille environ 1,000,000 de kilogr. par année. En outre, la sardinerie de Nieuport et différentes fumeries établies çà et là en utilisent également une quantité importante. Des quantités considérables sont expédiées dans l'intérieur du pays, en Hollande et en Allemagne ; chose curieuse, une grande partie nous est retournée d'Allemagne sous forme d'esprot fumé : Kielersprot. Ces considérations justifient l'intérêt qui s'attache à l'étude de cette question. Voilà pourquoi ce fut l'une des premières qui fut mise à l'étude à la station de recherches maritimes d'Ostende. Nous nous sommes efforcé d'être utile aux industries maritimes belges en étudiant les données qui peuvent éclairer leurs opérations.

Nos recherches sont loin d'être complètes ni terminées, mais nous avons pensé qu'elles présentaient un intérêt suffisant pour être publiées. Nous y avons ajouté quelques données sur la biologie de l'esprot et sur l'analyse des huiles, qu'il y a peut-être intérêt à rappeler et à raviver de temps à autre. C'est pour nous le point de départ de recherches ultérieures.

I. APERÇU SUR L'HISTOIRE NATURELLE, LA PÊCHE ET L'EXPLOITATION DE L'ESPROT.

1. **Caractères de l'esprot.** — L'esprot est un petit poisson qui ressemble à un jeune hareng ; sa taille ne dépasse jamais 0 m. 15 de longueur. Le dos de couleur bleue, est nuancé de vert clair. Les flancs sont argentés et ornés, au moment du frai, d'une bande aux reflets dorés.

Le corps est allongé, couvert d'écaillés minces, caduques.

Un caractère très important et qui permet de différencier l'esprot du hareng, de la sardine et de l'anchois est le suivant : il existe sur la ligne ventrale de l'esprot une crête très saillante, composée d'arêtes transversales ; on la sent très bien en passant le doigt de la queue vers la tête. Elle n'existe pas chez l'anchois et la sardine ; chez le hareng, elle existe derrière les nageoires ventrales seulement, mais la différence de taille des deux poissons ne peut pas permettre une confusion.

2. **Distribution géographique.** — On trouve l'esprot dans la Baltique, la mer du Nord, la Manche et l'Océan jusqu'à la Méditerranée. On le pêche sur toutes les côtes.

Il se tient habituellement dans les profondeurs et il n'apparaît qu'à certains moments au voisinage des côtes et dans les bas fonds. Les jeunes individus se tiennent dans les baies et les estuaires de fleuves, jusqu'à ce qu'ils aient acquis leur développement sexuel complet ; puis ils migrent vers la pleine mer pendant la période de ponte et ils retournent ensuite vers les eaux saumâtres.

3. **Pêche.** — On pêche l'esprot sur nos côtes depuis la Panne jusqu'à l'embouchure de l'Escaut (avec un permis de l'Etat hollandais). La période principale de pêche s'étend de novembre à février ; mais il se produit souvent des irrégularités : tantôt il apparaît plus tôt, tantôt il disparaît plus tôt ou plus tard ; cela dépend un peu du temps. On le pêche avec différents engins : les filets dormants, les filets dérivants, les seimes ; mais les pêcheurs belges le pêchent avec un filet spécial appelé « sprotnet ».

4. **Utilisation.** — L'utilisation d'une substance dépend naturel-

lement de sa composition. Voyons quelle est celle de l'esprot, nous saurons tout de suite ce que l'on peut en faire ; comme on doit s'y attendre, elle varie assez bien d'un poisson à l'autre ; nous ne pouvons donc être renseigné que par une série d'analyses.

Eau	65 — 70 %
Matières grasses	10 — 14,90 %
Azote total	2.15 — 3 %
Acide phosphorique	0.8 — 1.2 %
Cendres	2.35 — 2.80 %

Pour la matière grasse, on peut dire que la moyenne oscille plutôt entre 12 — 15 % ; nous avons pris les chiffres extrêmes des dosages.

L'esprot est un excellent aliment. On en consomme une petite quantité sur place à l'état frais. On en transforme une grande quantité en conserves à l'huile, analogues à celles de sardines, dans deux usines : l'usine Excelsior à Ostende et la Nieuportoise à Nieuport. On en fume une quantité assez importante chez différents sauriceurs du littoral.

L'usine Excelsior prépare également de l'esprot fumé en conserve.

Dans certains pays, en Norwège, par exemple, on les marine comme des anchois et on les vend sous le nom d'*anchois de Bergen* ; cela se fait également un peu à Ostende.

L'esprot peut servir aussi à fabriquer de l'huile et du guano ; on peut en retirer une huile très estimée pour la tannerie. Le résidu séché ou guano constitue un excellent engrais. Une seule usine en Belgique s'occupe de cette transformation, l'usine Excelsior d'Ostende.

Cette industrie est assez lucrative ; on peut en juger par les chiffres suivants :

100 k. esprot coûtent prix moyen	3 fr. 50
— donnent en moyenne	10 k. huile
— — — — —	35 k. guano

10 k. huile à 0.38 = 3.80
35 k. guano à 0.18 6.30

total 10.10 francs

A propos de la fabrication d'huile d'esprot, nous nous étions demandé s'il n'y avait pas des périodes où ces poissons renferment plus de matières grasses; nous avons fait des analyses aux différentes périodes de la saison: dans les premiers jours de novembre, à la mi-décembre et fin janvier; voici les résultats que nous avons obtenus:

4 novembre	—	—	—	Moyenne de 3 analyses	: 13,24
17 décembre	—	—	—		12,96
22 janvier	—	—	—		14,10

On ne voit donc pas de différences bien évidentes. La teneur des esprot en matières grasses paraît osciller autour de 13 à 14 %. Seulement, il nous a paru, en préparant de l'huile à la vapeur et par pression, qu'à la fin de la saison, dans le mois de janvier l'huile obtenue renfermait une plus grande proportion de stéarine. Mais lorsque nous avons voulu apprécier les quantités, nous n'avons pas obtenu des chiffres concordants.

II. LA FABRICATION DE L'HUILE D'ESPROT.

On peut extraire l'huile de l'esprot de différentes façons: soit à l'aide de dissolvants (éther, benzine, etc.), soit par l'action combinée de la vapeur et de la pression. Nous avons fait une étude méthodique de ce dernier procédé que nous allons résumer brièvement. Il comporte quatre opérations principales: la cuisson, le pressurage, la décantation, la cristallisation de la stéarine et la filtration.

1. Cuisson. — Elle se fait par l'introduction directe de la vapeur dans la masse de poissons. Elle a pour but de désagréger les cellules et de mettre la matière grasse en liberté.

Pour de petites quantités, elle peut se faire dans une simple cuve ouverte, dans laquelle on fait arriver un jet de vapeur par

un tuyau, dont l'extrémité se termine par une pomme d'arrosoir ; la partie inférieure du tuyau est rendue mobile par l'interposition d'un tuyau en caoutchouc.

Dans la grande industrie, on emploie des appareils appelés *cuisseurs*.

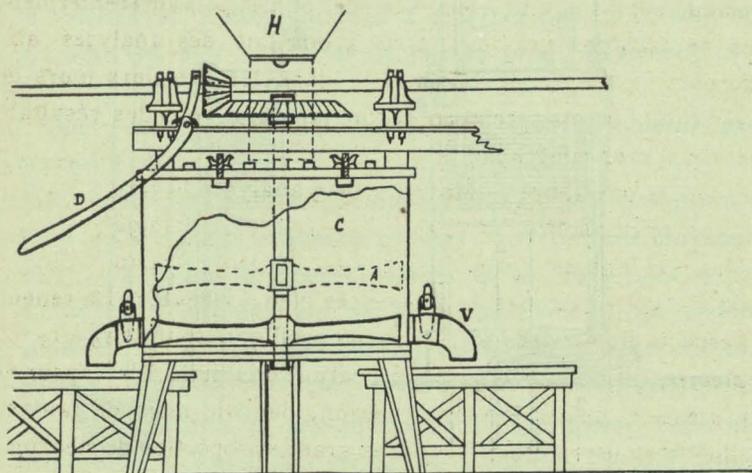


Fig. 1. — Cuisieur.

Ils ont la forme cylindrique et sont munis à l'intérieur d'un agitateur mécanique ; ils portent en outre un petit tuyau pour l'admission de la vapeur et un gros tuyau d'écoulement pour la matière. Celui-ci se trouve latéralement au-dessus d'une table, sur laquelle l'ouvrier prépare les sacs avec la bouillie de poissons pour les mettre à la presse.

Quelles sont les conditions d'une bonne cuisson ?

1. Elle doit se faire à une température aussi basse que possible et il faut tâcher de ne pas dépasser 70-80°.

2. Il faut employer de la vapeur sous une faible pression : le générateur qui fournit la vapeur doit avoir une pression qui ne dépasse pas $\frac{3}{4}$ à 1 atmosphère.

3. La durée de la cuisson doit être d'environ 45 à 60 minutes.

Lorsqu'on observe ces conditions, les poissons sont bien réduits en bouillie et la majeure partie de la matière grasse est mise en

liberté. Quand la cuisson est terminée, un ouvrier distribue la matière dans des sacs et la place sous la presse.

2. **Pressurage.** — Lorsque les poissons ont été bien désagrégés, on les soumet à l'action d'une pression énergétique pour en extraire

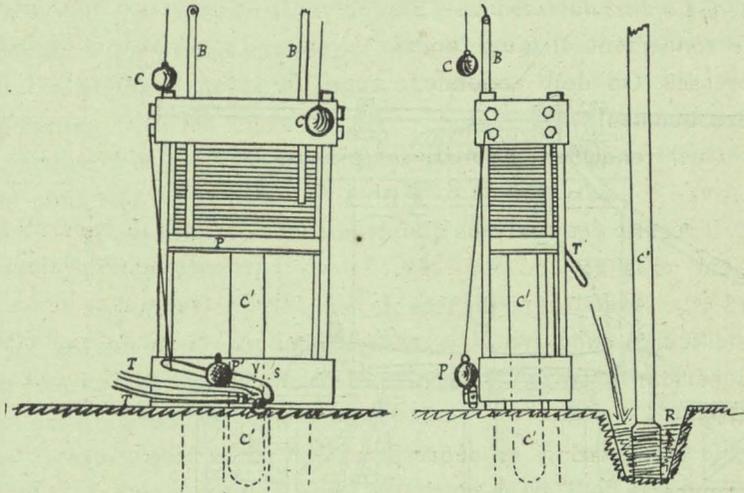


Fig. 2. — Presse hydraulique.

le plus d'huile possible, mais aussi et surtout pour enlever l'eau, afin de faciliter le séchage du résidu que l'on transforme en guano.

Il importe d'employer pour cette opération des presses très puissantes ; les meilleures sont les presses hydrauliques à pression continue. Cette opération doit se faire à chaud.

L'efficacité de la pression est surtout influencée par trois causes :

1. *L'énergie de la pression.* — Le rendement croît avec la pression, mais jusqu'à un certain point. Au delà d'une certaine pression, on n'observe plus d'excès de rendement. Les presses généralement employées exercent une pression de 150 atmosphères.

2. *Le mode de drainage.* — Il joue un grand rôle.

La matière à presser est placée dans des sacs en toile, qu'il faut toujours tenir bien propres. Afin de la répartir uniformément

dans les sacs, on mesure la quantité à mettre dans chacun à l'aide d'une mesurette spéciale.

Il importe que les sacs contenant la matière soient séparés par des claies en fer ou des linteaux.

3. *La durée du travail.* — Elle exerce une influence notable sur le rendement. Il faut 2 heures à 2 h. 1/2 pour faire une bonne pressée. On doit actionner la presse progressivement et non brusquement.

Quel rendement en matières grasses peut-on obtenir par ce travail ?

Il résulte des analyses que nous avons faites que l'esprot contient 12 à 15% de matières grasses ; prenons une moyenne de 13,5%. Avec les meilleures presses et en travaillant dans les meilleures conditions, on ne peut guère obtenir un rendement supérieur à 10-11% ; la plupart du temps, il n'est même pas atteint.

3. *Décantation et séparation de l'huile d'avec l'eau et les impuretés.* — Lorsqu'on presse de la bouillie d'esprot, le jus est constitué par de l'eau et de l'huile ; l'eau renferme en solution tous les principes solubles du poisson, y compris des albumines solubles, substances très altérables par les microorganismes.

Dans certaines usines, on emmagasine les liquides sortant des presses dans de grands réservoirs. A la fin de la période de travail, on laisse écouler l'eau, et l'huile reste dans les réservoirs.

Cette façon d'opérer est très mauvaise et donne de l'huile de qualité inférieure. Les liquides emmagasinés dans ces grands réservoirs s'altèrent très rapidement sous l'influence des microbes et particulièrement des microbes anaérobies ; il ne reste à la fin du travail qu'un résidu infecte, où l'on a de la peine à trouver l'huile. L'huile elle-même est brun-foncé ou même tout à fait noire et elle exhale une odeur repoussante.

A notre avis, il est bien préférable d'opérer de suite la séparation de l'huile. Nous avons fait construire un appareil très simple, qui permet d'opérer commodément cette séparation et qu'il est

facile d'imaginer d'après la disposition des boules à décantation employées dans les laboratoires.

Les liquides encore chauds, au sortir de la presse, y sont laissés en repos pendant 1-2 heures : l'eau se sépare nettement d'avec l'huile qui surnage ; on évacue l'eau que l'on peut facilement enlever tout entière. Entre l'huile et l'eau, il y a souvent un magma formé de détritiques organiques et d'huile. Il faut recueillir cette partie à part ; elle contient encore un peu d'huile, qui se sépare par le repos.

Quelquefois il y a tant de détritiques organiques englobés dans l'huile, qu'il est quelquefois utile de la laver afin de pouvoir les entraîner. On ajoute de l'eau à 50°, en quantité un peu moindre que l'huile, on laisse déposer quelque temps, puis on évacue l'eau qui entraîne la plupart des impuretés.

Il importe de priver l'huile de l'eau et des matières organiques qui permettraient aux microorganismes de se développer et de l'altérer ; ils forment des acides qui saponifient les glycérides de l'huile.

Il faut aussi soustraire l'huile à l'action de l'oxygène de l'air, qui est également un agent d'altération des huiles et particulièrement de l'huile d'esprot.

Nous conseillons donc de l'emmagasiner, de suite au sortir des appareils à décantation, dans des récipients que l'on remplit complètement et que l'on ferme hermétiquement. Toutes ces opérations doivent se faire immédiatement ; il ne faut pas laisser écouler un intervalle de plus de 8-10 heures entre la sortie des liquides des presses et la mise de l'huile en tonneaux. L'huile traitée de la sorte constitue l'huile de première qualité.

Une chose qu'il ne faut pas perdre de vue dans le travail de l'huile d'esprot, c'est qu'elle entre facilement en émulsion avec l'eau : lorsqu'il y a plus d'eau que d'huile en présence, il se forme une émulsion qu'il est très difficile de détruire. Pour faire cesser cet état, il faut la chauffer par un courant de vapeur vers 60-70° ou y ajouter une certaine quantité de sel, qui se dissout dans l'eau, augmente sa densité et provoque la séparation.

4. **Cristallisation de la stéarine et filtration.** — L'huile d'esprot ainsi traitée est alors mise au froid ; la cristallisation de la stéarine se fait mieux à basse température et surtout à une température voisine de 0°. Lorsque c'est possible, il vaut mieux la mettre dans une glacière.

Il faut un mois ou deux pour que la cristallisation de la stéarine soit complète. Alors on filtre et on emmagasine l'huile dans des fûts ou des bidons, que l'on a soin de boucher hermétiquement.

Séchage du Guano. — Les résidus sortant des presses sont déchiquetés et séchés. Il y a différents modèles de séchoir. Nous en figurons ci-dessous un type qui est encore assez fréquemment employé. Il consiste en un tambour (renfermant le guano), qui tourne au-dessus d'un foyer.

Le séchage du guano de poisson dégage souvent une odeur infecte qui est de nature à incommoder les habitants du voisinage des usines de poissons. Cet inconvénient n'est pas absolument inhérent au séchage du guano ; mais il est dû à ce que ces usines travaillent souvent des produits altérés et aussi des déchets de poissons. Ils ont été envahis par la putréfaction, qui y a déterminé la formation de produits spéciaux, qui sont volatilisés dans l'atmosphère pendant le séchage du guano. On a essayé de remédier à cet inconvénient en brûlant les émanations du séchoir, mais leur destruction est incomplète.

Le guano de poissons constitue un excellent engrais. Il présente la composition suivante :

Eau	8 — 15 %
Matière grasse	3 — 7 »
Azote total	8 — 10.4 »
Acide phosphorique	3 — 5.3 »
Cendres	12.5 — 15.2 »

III. — ÉTUDE DE L'HUILE D'ESPROT.

Cette huile n'ayant pas encore fait l'objet d'une étude chimique, il était intéressant d'en déterminer les caractères.

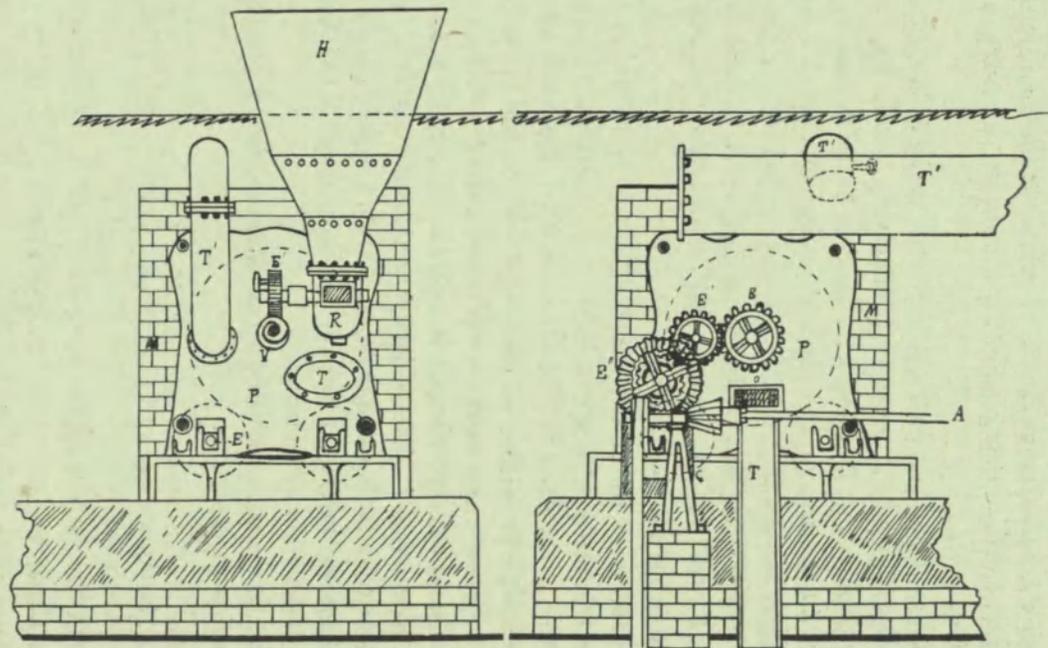


Fig. 4.— Machine à sécher le guano vue du côté de l'entrée et de la sortie du guano.

H et R, entrée du guano. T, sortie (figure de droite). E, E' et E'', roues dentées et engrenages. Le cylindre sécheur est figuré en pointillé. Le foyer se trouve latéralement et n'est pas indiqué dans la figure.

On sait que la composition des huiles est assez variable suivant le mode de fabrication, l'âge des huiles et surtout la façon dont elles ont été conservées. Si cela est vrai pour les huiles en général, ce l'est surtout pour l'huile dont nous nous occupons. On le verra par suite de cette étude.

Les déterminations ont été faites sur l'huile préparée comme il est dit plus haut ; après l'extraction, elle avait séjourné dans une glacière pendant 2 mois, après lesquels elle a été filtrée pour écarter la stéarine. Cependant, nous ne pouvons pas dire qu'elle en était absolument exempte. A ce propos, nous ferons remarquer qu'il est extrêmement difficile d'enlever la dernière trace de ce glycéride ; il nous est arrivé fréquemment de préparer de l'huile d'esprot et de laisser cristalliser la stéarine à une température voisine de 0°, en hiver, de la filtrer et de répéter ces opérations plusieurs fois et de trouver qu'elle se troublait encore par le froid après 3, 4 mois ! Si nous insistons sur ce point, c'est pour montrer que les déterminations physiques et chimiques des huiles ne peuvent pas être prises absolument à la lettre, mais que les caractères peuvent varier dans certaines limites, sans que l'on puisse attribuer ces différences à des inexactitudes dans les méthodes. Nous verrons plus loin que l'huile d'esprot subit très fort l'action de l'oxygène de l'air, qui en modifie profondément les caractères.

Caractères physiques. — 1. *Densité.* Elle a été prise à la balance de Westphal à 15° : 0,9274.

2. *Indice de réfraction au réfractomètre Abbe-Zeiss.* 1,4795 à 22°.

3. *Viscosité.* Elle a été déterminée à l'aide du viscosimètre de Engler par comparaison avec l'eau. Elle est de $\frac{435}{51} = 8,53$ à 20°.

Composition. On sait que les huiles sont constituées par des glycérides d'acides gras. Elles renferment presque toujours un peu d'acide oléique en liberté. A côté de cela, on trouve des matières dites insaponifiables, qui font partie intégrante de l'huile et qui l'accompagnent dans tous les dissolvants.

Les acides gras contenus dans les huiles de poissons sont de composition complexe et peu connue ; on n'est pas encore arrivé aujourd'hui à les séparer sûrement. Nous avons déterminé les principaux constituants de l'huile d'esprot.

Acides libres (acide oléique)	3,28 %
Acides gras fixes	95,10
Acides gras volatils calculés en milligrammes de KOH	0,28 %
Glycérine	10,48
Matières insaponifiables.	1,36

REMARQUES. — 1. La glycérine a été dosée par la méthode de Bull.

2. Les matières insaponifiables ont été déterminées par la méthode suivante, qui sera décrite plus en détail par M. Huwart. On saponifie 5 gr. d'huile par la KOH alcoolique, on évapore l'alcool, on reprend par l'eau, puis on extrait deux fois par l'éther sulfurique dans une boule à décantation ; pour obtenir une séparation rapide de l'éther d'avec la solution aqueuse, on ajoute 20 à 25 cent. cubes de glycérine. On sépare l'éther et on évapore à *sec*, puis on reprend le résidu par l'éther sulfurique ou l'éther de pétrole et on filtre la solution ; il reste un résidu insoluble dans l'éther sulfurique anhydre ou l'éther de pétrole, mais qui s'y dissout quand il y a de l'eau en présence ; ce sont des savons qui avaient été entraînés dans la première extraction.

La solution étherée contenant l'insaponifiable est évaporée ; on sèche et on pèse le résidu qui est exempt de cendres.

Caractères chimiques des huiles. — Nous avons fait l'étude de l'huile et des acides gras.

A. Huile. — **Réactions de Coloration.** — Les huiles renferment, en petite quantité, des principes indéfinis, qui se manifestent sous l'action de réactifs appropriés en donnant des colorations, qui varient généralement suivant les huiles et que l'on a considérées comme spécifiques, mais sans preuves.

Elles ont eu, tour à tour, la faveur des chimistes, ; elle s'est

ensuite dissipée à mesure qu'on les a étudiées de plus près. Elles ont perdu aujourd'hui beaucoup de leur importance et il y a nombre de chimistes qui hésitent encore à les prendre en considération.

Nous allons cependant examiner quelques réactions de coloration de cette huile.

1. *Action de l'acide sulfurique.* — On a étudié cette réaction de 2 façons :

a) On dissout une goutte d'huile dans 19-20 gouttes de sulfure de carbone, on ajoute une goutte d'acide sulfurique concentré ; on obtient une coloration violette fugace.

b) On prend un gr. d'huile, on ajoute 3 gouttes d'acide sulfurique concentré : on obtient une teinte pensée magnifique (violet rougeâtre), qui passe rapidement au rouge cerise et plus tard devient rouge noirâtre.

Cette réaction lui est commune avec l'huile de foie de morue. Sous l'action de la lumière, l'huile d'esprot blanchit peu à peu. Une huile qui est restée longtemps exposée à l'action des rayons lumineux ne donne presque plus de coloration violette avec l'acide sulfurique et elle peut perdre entièrement cette propriété à la longue. M. M. Jorissen et Eug. Hairs ont fait la même constatation pour l'huile de foie de morue.

2. *Action de l'acide nitrique fumant.* — On opère de la façon suivante : on dépose un verre de montre sur une feuille de papier blanc et on y verse 10-15 gouttes d'huile, puis on fait arriver 3 gouttes d'acide nitrique fumant. L'huile prend au contact de l'acide une magnifique teinte rose-feu. Si l'on mélange avec un agitateur, le liquide prend la même coloration dans toute la masse. La teinte rouge s'accroît alors peu à peu et se fonce ; après quelque temps, le liquide est brun foncé. L'huile de foie de morue au contraire devient jaune.

3. *Réactif de Cailletet.* — Il est composé de

Acide phosphorique à 45° B°	12 parties
— sulfurique à 66° B°	7 —
— nitrique à 40° B°	19 —

Dans un flacon bouché à l'émeri, on introduit 5 cent. cub. d'huile à essayer, puis 1 cent. cub. du réactif. On agite le mélange pendant quelques secondes, on l'additionne de 5 cent. cubes de benzine pour dissoudre l'huile et on abandonne le tout au repos pendant une 1/2 heure. Au moment de l'agitation, l'huile d'esprot prend une teinte rouge qui se fonce rapidement et après une demi-heure la coloration est brun foncé.

L'huile de foie de morue donne une coloration rouge, qui devient jaune après environ une demi-heure.

On pourrait donc, à l'aide du réactif de Cailletet, distinguer l'huile d'esprot de l'huile de foie de morue et même apprécier la proportion du mélange.

A notre avis, on doit faire à cette réaction la même objection qu'à toutes les réactions de coloration.

Indice d'acide	6,885
Indice de saponification	194,200
Indice d'éthers	187,315
Indice d'acides gras fixes (Hehner)	95,10
Indice d'acides volatils (Reichert)	1,40
Indice d'iode après 6 heures	142,0
Indice d'acétyle	8,8

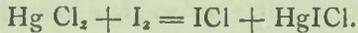
B. Etude des acides gras

Point de fusion	27,09
Point de solidification	25,4
Acidité	196,3
Saponification	200,8
Différence (Lactones ?)	4,5
Indice d'iode	147,6
Indice d'acétyle	8,4

Remarques à propos des méthodes suivies.

1. L'indice d'iode a été déterminé par la méthode de Hübl en mélangeant la solution d'iode et de sublimé 24 heures avant l'em-

ploi. Ces deux solutions réagissent l'une sur l'autre d'après la formule :



C'est la réaction principale ; si on attend plus de 48 heures, il s'en passe encore d'autres moins importantes ; l'alcool réagit sur l'iode pour donner un peu de HI. On peut hâter cette transformation en chauffant la solution au bain-marie dans un ballon muni d'un réfrigérant ascendant ; la modification se fait alors entièrement et le titre ne varie plus.

C'est le chlorure d'iode, ICl, qui se fixe sur les acides gras non saturés.

2. L'indice d'acétyle a été déterminé par la méthode de M. Lewkowitz : l'acide acétique fixé par l'huile ou les acides gras est mis en liberté, puis il est distillé dans un courant de vapeur et évalué par titrage.

3. Les acides gras ont été préparés par la méthode ordinaire, mais on a évité de les sécher à l'étuve, opération pendant laquelle ils s'altèrent beaucoup. On les sèche dans le vide à basse température. Cette opération se fait commodément de la façon suivante : les acides gras sont introduits dans un petit ballon, au-dessus duquel on fait le vide en le raccordant à une trompe aspirante ; on promène le fond du ballon au-dessus de la flamme d'un brûleur Bunsen, en ayant soin de ne pas trop élever la température ; il ne faut pas dépasser 50°. On s'en rend parfaitement compte en passant de temps à autre le ballon sur la main. On voit la vapeur d'eau se dégager par bulles. En quelques instants, les acides gras sont secs, si toutefois la couche n'est pas trop épaisse ; on s'aperçoit facilement de ce moment à ce qu'ils deviennent parfaitement transparents et qu'ils n'y a plus de dégagement de vapeur d'eau. Mais il importe d'avoir une bonne trompe, donnant une raréfaction de 1 à 2 centimètres.

Cette méthode nous a été indiquée par M. Bull, chimiste à Ber-

gen, et nous nous en sommes fort bien trouvé. A notre avis, elle est d'un emploi indispensable pour l'étude des corps gras et nous sommes persuadé que sa généralisation permettrait de réaliser d'importantes améliorations dans les méthodes d'analyses de ces substances si altérables.

4. On remarquera la différence qui existe entre l'action de la KOH à froid (acidité) et à chaud (saponification) sur les acides gras : il y a une différence de 4,5 milligrammes de KOH. Nous l'avons trouvée beaucoup plus grande dans des huiles âgées et qui étaient restées un certain temps au contact de l'air ; elle était de 12 milligrammes. M. Lewkowitz attribue cette différence à l'existence de *lactones*. On sait que les lactones sont des éthers sels formés par l'union avec déshydratation d'une fonction acide et d'une fonction alcool appartenant à la même molécule. Nous croyons que ce point devrait faire l'objet de nouvelles recherches pour être bien établi.

RECHERCHE DE L'ESPROT

DANS

23609

LES CONSERVES DE SARDINES ET D'ANCHOIS

PAR

M. HENSEVAL.

On substitue fréquemment, dans les conserves, l'esprot à d'autres poissons et particulièrement à la sardine et à l'anchois.

Il est difficile de les distinguer parce que leurs caractères sont tirés de la tête, des nageoires, de l'opercule, des yeux, etc., toutes parties qui n'existent plus dans les poissons mis en conserve.

1. Ce poisson diffère quelque peu des autres par la forme du corps, la couleur, l'aspect général, etc., mais ces caractères ne peuvent servir d'une façon absolue à les distinguer.

2. Il existe sur la ligne ventrale de l'esprot une crête rugueuse formée d'arêtes transversales. On la sent très bien en passant le doigt de la queue vers la tête. Elle est beaucoup plus prononcée chez l'esprot que chez le hareng où elle n'existe que derrière les nageoires ventrales. Elle n'existe pas chez l'anchois et la sardine.

RAPPORT

A M. LE MINISTRE DE L'INTÉRIEUR ET DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

SUR LA MISSION CONFIEE A

. 23611

M. HENSEVAL,

POUR L'ÉTUDE

DE QUESTIONS RELATIVES A L'UTILISATION DES PRODUITS
DE LA PÊCHE MARITIME.

M. le Ministre de l'Intérieur et de l'Instruction publique m'a chargé d'aller étudier en Norwège l'utilisation des produits de la pêche. Je me suis rendu à la « Forsögstation for tilvirking af fiskeprodukter » à Bergen. Ce laboratoire, qui existe depuis plus de 10 ans, a produit de nombreux travaux.

M. l'abbé Pype a organisé à Ostende, avec l'intervention du Ministère de l'Industrie et du Travail, un laboratoire similaire, auquel je suis attaché. Il était désirable que cette institution pût profiter des travaux qui avaient été faits en Norwège. On éprouve beaucoup de difficultés à recueillir des renseignements sur les procédés d'utilisation des poissons. Ils sont la propriété de quelques industriels qui les exploitent en secret et il n'y a presque aucune publication scientifique sur ces questions. Il faut ajouter aussi qu'elles sont fort difficiles ; elles ressortent de parties de la chimie et de la bactériologie encore peu connues. C'est là sans doute la raison de leur délaissement.

Au cours de mon voyage, j'ai reçu partout un accueil sympathique. Je suis heureux d'adresser tous mes remerciements à M. Konow, Consul de Belgique à Bergen, et à M. Bull, directeur de la « Forsögstation for tilvirking af fiskeprodukter, » qui ont été pour moi d'une obligeance inépuisable. Celui-ci a bien voulu me mettre au courant des questions qui ont occupé son activité depuis la création de son laboratoire. Il m'a permis de refaire sous ses yeux les opérations les plus délicates.

Je vais exposer brièvement l'état de la question sur les différents sujets dont je me suis occupé au laboratoire de Bergen.

I. HUILES DE POISSON.

1. Fabrication. — Les huiles de poisson de l'industrie (hareng, esprot, etc.) ont généralement une couleur très foncée et une odeur désagréable, qui les déprécie et les rendent inutilisables dans beaucoup de cas, entr'autres pour la savonnerie. Cela tient en partie à ce qu'elles sont mal préparées. On traite souvent des poissons et des déchets putréfiés ; ou bien on laisse les huiles en contact avec les eaux contenant des matières organiques en pleine putréfaction.

Pour obtenir de bonnes huiles, il est essentiel de travailler des produits frais et de les séparer des eaux impures de suite après leur extraction.

Ces altérations sont dues également à la nature particulière de ces huiles : elles renferment des acides gras fixes, à chaînons non saturés, qui s'oxydent facilement pour donner naissance à des produits volatils très odorants.

L'extraction industrielle des huiles de poisson est généralement défectueuse au point de vue du rendement en huile et de la qualité du guano obtenu. (Le guano est constitué par les déchets de poisson dégraissés, pressés et séchés). Les poissons (harengs, esprot, etc.) renferment environ 12 à 15% de matières grasses ; l'extraction industrielle en laisse 3, 4 et même quelquefois 5 %. Le guano de poisson est employé comme engrais ; il est désirable qu'il renferme le moins possible de matières grasses, car celles-ci ne sont guère attaquées par les microbes et retardent la minéralisation de ses éléments dans le sol.

Des essais nombreux ont été faits sur cette question à la station de recherches de Bergen. On a obtenu les meilleurs résultats en opérant de la façon suivante :

1. Les poissons sont cuits à la vapeur dans un appareil spécial.

2. Puis ils sont soumis à la centrifugation. L'huile est immédiatement décantée et lavée.

3. Les résidus sont alors extraits à la benzine ou à l'éther de pétrole, qui enlèvent les dernières portions de matières grasses. Le guano est séché par différents procédés.

Ces expériences demanderaient à être répétées et poursuivies, particulièrement pour le séchage du guano. On le sèche généralement par l'action directe du feu ; beaucoup de matières organiques sont brûlées ; des produits de putréfaction sont volatilisés dans l'atmosphère, qu'ils empestent au point d'incommoder les personnes à une très grande distance. On a imaginé de brûler les gaz qui se développent pendant le séchage du guano ; mais cette opération est souvent mal faite ou insuffisante.

M. Bull a eu l'obligeance de me communiquer de nombreux renseignements, qui me permettront de poursuivre des recherches sur cette question.

2. **Raffinage.** — Je vais exposer brièvement les procédés dont on a fait l'étude à Bergen.

1. *Décoloration à l'aide de la soude caustique en solution diluée.*

On fait d'abord un essai préliminaire pour déterminer la quantité d'acides gras libres de l'huile en opérant sur 5 gr. ; on fait un titrage à l'aide d'une solution alcoolique de potasse caustique au $\frac{1}{10}$ normale.

On calcule alors la quantité de soude nécessaire pour neutraliser 100 gr. d'huile, on ajoute 15 % en plus pour que les savons ne restent pas en émulsion dans l'huile, ce qui n'arrive pas quand la solution est alcaline. On emploie une solution de soude à 30 %.

On opère de la façon suivante : on met l'huile dans un grand ballon, on la chauffe en faisant passer un courant de vapeur, on ajoute 2 à 3 volumes d'eau chaude, puis la solution de soude.

On fait bouillir 3 minutes en faisant passer un courant de vapeur. On décante la solution aqueuse en siphonnant. On ajoute à nouveau 2 volumes d'eau chaude, $\frac{1}{2}$ cent. cub. de solution de soude à 30 %, on fait bouillir 1 à 2 minutes au courant de vapeur, on laisse

reposer $\frac{1}{2}$ heure sur un bain-marie chaud, puis on siphonne l'eau.

On ajoute ensuite un volume d'eau, puis 50 cent. cub. d'acide chlorhydrique en solution normale pour dissoudre les savons en émulsion dans l'huile ; on vérifie si la réaction est acide, on fait bouillir dans un courant de vapeur 5 à 10 minutes. On laisse reposer 1 à 2 heures au bain-marie chaud, puis on siphonne l'eau.

Si on veut récupérer les acides gras que l'on a enlevés par le premier traitement à la soude, on prend le premier liquide que l'on a siphonné, on acidifie avec l'acide chlorhydrique et on fait passer un courant de vapeur pendant une demi-heure, on siphonne l'eau et on répète plusieurs fois le lavage. Il se dépose souvent comme impuretés une matière solide.

On peut également clarifier l'huile en ajoutant 5 % de sucre au lieu d'acide chlorhydrique normal. Il paraît que l'on obtient ainsi de meilleurs résultats.

2. *Décoloration à l'aide de la soude caustique en solution concentrée.*

Il faut prendre le double de la quantité théorique de soude.

Prendre 100 gr. d'huile, ajouter la solution de soude, chauffer directement sur un brûleur en agitant vivement jusqu'à formation du savon ; on voit bientôt surnager les grumeaux de savon ; on laisse refroidir, le savon descend et l'huile surnage. On laisse déposer un jour, puis on décante l'huile. On ajoute de l'acide chlorhydrique jusqu'à réaction acide, on fait bouillir à la vapeur comme plus haut et on siphonne la partie aqueuse. On lave deux ou trois fois à l'eau et on fait bouillir à la vapeur.

On peut ainsi améliorer beaucoup les huiles : on enlève les acides gras libres ; on décolore l'huile en grande partie et on la débarrasse des matières en suspension.

3. *Désodorisation.* — On peut désodoriser les huiles de poisson en distillant les produits volatils, sous pression réduite, par entraînement avec la vapeur d'eau. Ce procédé est connu depuis longtemps, il a été employé souvent pour purifier les huiles : on avait fait beaucoup d'expériences sur ce sujet au laboratoire d'Ostende sans avoir jamais réussi à enlever toute l'odeur. L'exé-

cution de cette opération est fort délicate et elle ne paraît guère susceptible d'être employée dans l'industrie, au moins actuellement. Ce n'est guère qu'une expérience de laboratoire fort instructive d'ailleurs. M. Bull a réussi à désodoriser entièrement l'huile de foie de morue et il a bien voulu nous montrer son mode opératoire. La condition essentielle pour réussir est d'obtenir une raréfaction d'air très avancée ; M. Bull travaillait sous une pression de moins de 0,01. Tout le succès de l'expérience en dépend. Il faut également avoir soin de ne chauffer l'huile qu'à l'abri de l'air. L'oxydation des acides gras fixes donne naissance à des produits volatils très odorants et, à chaud, elle se fait plus rapidement.

Lorsque l'opération est bien conduite, *on enlève toute odeur aux huiles de poisson*. Mais si on les laisse exposées à l'air pendant quelque temps, elles la reprennent vite. Voilà bien la preuve que ces produits odorants sont des produits d'oxydation. La difficulté de faire industriellement la désodorisation des huiles par cette méthode est d'obtenir une raréfaction d'air suffisante dans de grands appareils. Elle n'a donc pour le moment qu'un intérêt théorique. Le laboratoire d'Ostende poursuit des recherches sur cette question et nous espérons arriver, si pas à faire industriellement la désodorisation des huiles, au moins à connaître la nature des produits volatils qui s'y forment. D'ailleurs, la solution du problème de l'obtention de bonnes huiles de poisson ne paraît pas résider dans la désodorisation. Lorsqu'on connaîtra bien leur nature chimique et les transformations qu'elles subissent sous l'effet des différents agents auxquels elles sont exposées, il sera très facile de préparer de bonnes huiles et de les soustraire aux actions nuisibles.

Dans nos recherches au laboratoire d'Ostende nous sommes parvenus à préparer une huile de foie de morue excellente, presque sans goût, ni odeur désagréables. Elle sera étudiée dans un prochain travail. Tout le secret de la fabrication réside dans les points suivants : il faut traiter des foies frais, bien propres et

privés de leur vésicule biliaire. Après extraction par la vapeur à basse température (100-110°), il faut séparer l'huile des eaux impures et enlever par décantation et lavage toutes les matières organiques en suspension. Il importe d'éviter autant que possible le contact de l'air. L'huile est mise en bidons remplis et fermés hermétiquement ; on la laisse reposer au froid pendant deux ou trois mois, pour permettre la cristallisation des glycérides solides, puis on la filtre. Elle est prête, à être livrée à la consommation.

4. — **Fabrication de l'huile oxydée.** — On a vu plus haut que les huiles de poisson sont très oxydables. On peut les transformer par oxydation en une substance visqueuse utilisable pour divers usages industriels : le graissage des cuirs qu'elle rend imperméables et le graissage des cylindres de machines à vapeur.

Comment peut-on faire, en pratique, l'oxydation des huiles de

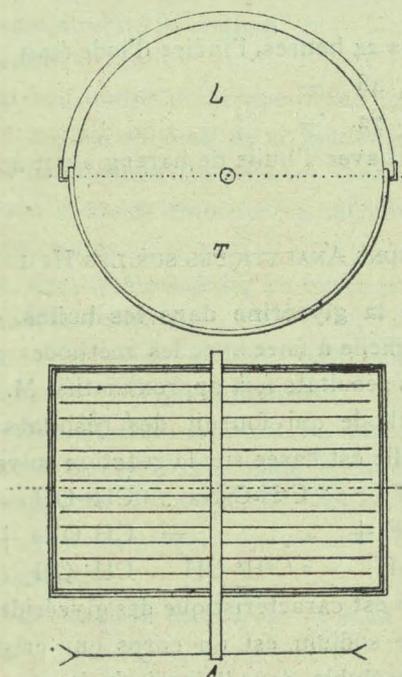


Fig. 1. Appareil de M. Bull pour l'oxydation des huiles.
Coupe verticale. — Coupe transversale.

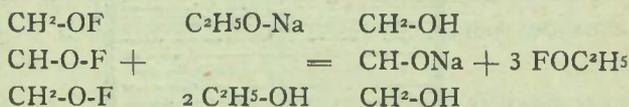
poisson ? M. Bull, de Bergen, a fait des recherches sur cette question qui l'ont conduit à d'excellents résultats. Il emploie un petit appareil représenté dans la figure 1. Il est formé par un réservoir demi-cylindrique contenant l'huile et recouvert d'un autre cylindre L. A l'intérieur se trouve un agitateur composé d'un grand nombre de disques circulaires. Le réservoir T est rempli à moitié avec de l'huile. L'agitateur sert à augmenter la surface d'exposition à l'air ; celui-ci est chassé par une ouverture et aspiré par l'autre. Dans le laboratoire, on produit l'aspiration en mettant une ouverture en communication avec le trou d'aéragé d'un brûleur Bunsen, dans lequel les produits odorants sont brûlés. On chauffe l'huile du réservoir T à l'aide d'un autre brûleur ; on la tient à une température de 50 à 60°. L'oxydation dure environ 3 jours. Elle se manifeste par la diminution progressive de l'indice d'iode.

Après 24 heures, l'indice d'iode était	131.3
— 48 —	113.3
-- 72 --	90.

Le produit fait avec l'huile de hareng avait à 50° une viscosité de $\frac{820}{53} = 15,5$

II. — OPÉRATIONS ANALYTIQUES SUR LES HUILES DE POISSON.

1. Dosage de la glycérine dans les huiles. — Ce dosage est extrêmement difficile à faire avec les méthodes actuelles, qui ne donnent que des résultats fort approximatifs. M. Bull a fait connaître une méthode qui fournit des résultats d'une précision remarquable. Elle est basée sur la réaction suivante :



Cette réaction est caractéristique des glycérides.

L'éthylate de sodium est un corps qui cristallise ; il est en grande partie insoluble dans l'alcool *absolu* et entièrement dans un mélange d'alcool absolu et d'éther anhydre.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS.

1. *Alcool absolu.* — Il doit renfermer au moins 99,97 de C^2H^6O . L'alcool absolu du commerce, le plus pur qui existe, est préparé par la maison Kalbaum de Berlin ; il est à 99,8. M. Bull est arrivé à l'obtenir plus concentré encore par la méthode suivante :

a) On dose l'eau contenue dans l'alcool que l'on veut concentrer (alcool du commerce à 94-95 %).

b) On ajoute la quantité de sodium nécessaire pour détruire l'eau contenue dans l'alcool, mais avec un petit excès.

c) On ajoute quelques gouttes d'huile pour détruire l'excès de sodium.

d) On chauffe une heure au bain-marie.

e) On distille l'alcool.

L'alcool obtenu de cette façon est chimiquement pur et peut servir à préparer l'éthylate de sodium.

2. *Ether anhydre.*

a) Traiter l'éther commercial par une petite quantité de chlorure de calcium ; il se dépose au fond de la bouteille un liquide lourd (eau + chlorure de calcium). Décanter. — Traiter à nouveau par une plus grande quantité de chlorure de calcium. Laisser en contact 24 heures. Décanter.

b) Ajouter des lamelles de sodium en excès pour détruire l'eau. Laisser en contact 24 heures.

c) Chauffer au réfrigérant ascendant jusqu'à disparition de tout dégagement d'hydrogène (12 à 24 heures).

d) Distiller l'éther. Mais auparavant, on fait bien de vérifier s'il n'y a plus de dégagement d'hydrogène par addition de nouvelles lamelles de sodium en chauffant légèrement dans un tube à réaction.

3. *Ethylate de sodium.*

Dissoudre 46 gr. environ de sodium dans un litre d'alcool chimiquement pur.

4. *Contrôle des réactifs.*

Avant de les employer, il faut vérifier s'ils sont vraiment *anhy-*

dres de la façon suivante : dans un tube à réaction, on verse 4 à 5 cent. cub. d'alcool sodé et 10 cent. cub. d'éther anhydre. Le mélange de ces deux corps doit être parfaitement limpide ; non seulement il ne doit pas y avoir de trouble, mais il ne peut y avoir d'apparence laiteuse.

OPÉRATION DU DOSAGE.

On se sert d'une fiole jaugée de 50 cent. bouchée à l'émeri.

Prendre 3 gr. environ d'huile dans le tube. Ajouter 3 cent. cub. d'éthylate de sodium. Agiter, laisser reposer un peu. Chauffer au bain-marie à 60° pendant 1/2 heure, laisser refroidir. Ajouter de l'éther aux 3/4 de la fiole, agiter, compléter le volume à 50 cent. cub., bien agiter en retournant la fiole plusieurs fois. Laisser reposer 2 ou 3 heures jusqu'à ce que la partie supérieure soit bien limpide.

a) Prendre 25 cent. cub. de liquide clair à la partie supérieure, ajouter environ 5 c^s d'alcool neutre (les savons ont une réaction alcaline et agissent sur la phénolphtaléine ; en présence d'alcool ils sont inertes.) Titrer à l'acide chlorhydrique au 1/10 normal.

b) Verser les 25 cent. cub. inférieurs dans un verre, laver la fiole à l'alcool neutre. — Titrer comme plus haut.

La différence entre les deux titres obtenus représente le sodium combiné à la glycérine sous la forme de glycérate de sodium.

Calcul.	Ex.	1 ^{er} titrage	12,15
		2 ^{ème} »	39,55
		différence	<u>27,40</u>

C³ H⁸ O³ a un poids moléculaire de 92.

$$27,40 \times 0,0092 = 0,252 \text{ glycérine.}$$

$$\frac{0,252}{3} = \frac{X}{100}$$

$$\text{d'où } X = \frac{0,252 \times 100}{3} = 8,4 \text{ \% de glycérine.}$$

2. Séparation des acides gras fixes dans les huiles.

L'étude des acides gras fixes des huiles de poisson a été faite à

l'aide de différents procédés : la préparation de leurs sels et leur séparation par cristallisation ; la distillation par la vapeur surchauffée. Ces méthodes n'ont pas donné de résultats satisfaisants ; autant d'analyses autant de résultats différents. Tous les chimistes qui se sont occupés de cette question ont trouvé de nouveaux corps. M. Bull, qui avait fait antérieurement l'analyse des acides gras par ces méthodes, la recommence aujourd'hui par une méthode spéciale qui promet des résultats. Nous allons l'exposer brièvement. Il prépare les éthers éthyliques ou méthyliques des acides gras fixes et il les sépare par distillation fractionnée sous pression réduite. Ces éthers ont un point d'ébullition beaucoup plus bas que les acides eux-mêmes et ils distillent facilement dans ces conditions sans aucune altération.

PRÉPARATION DE L'ÉTHER ÉTHYLIQUE DES ACIDES GRAS FIXES.

— Exemple. Prendre 2 kilogrammes d'huile de foie de morue, 300 gr. d'alcool absolu, 180 cent. cubes d'éthylate de sodium. Agiter dans un ballon ; laisser reposer 2 jours en agitant de temps en temps. Ajouter $\frac{1}{2}$ litre d'eau, faire bouillir en introduisant de la vapeur d'eau pendant 10 minutes, laisser reposer ; après quoi, la solution aqueuse se sépare des éthers d'acides gras. Décanter les éthers.

DISTILLATION SOUS PRESSION RÉDUITE. — La distillation se fait dans l'appareil représenté dans la figure 2. Il présente de nombreux avantages : il permet de chauffer à la température minima et par conséquent de faire passer les éthers d'acides gras sans la moindre altération ; en outre, il se manie aisément et permet d'opérer rapidement.

Le ballon de distillation est entouré de deux manchons en asbeste séparé par un bain d'air qui protège le ballon et son col contre la déperdition de la chaleur.

Les portions distillées sont ensuite étudiées à part.

3. Détermination de la valeur d'une huile de graissage. — Le but de l'emploi des huiles pour le graissage des machines est de diminuer le frottement, afin d'économiser de la force et de réduire

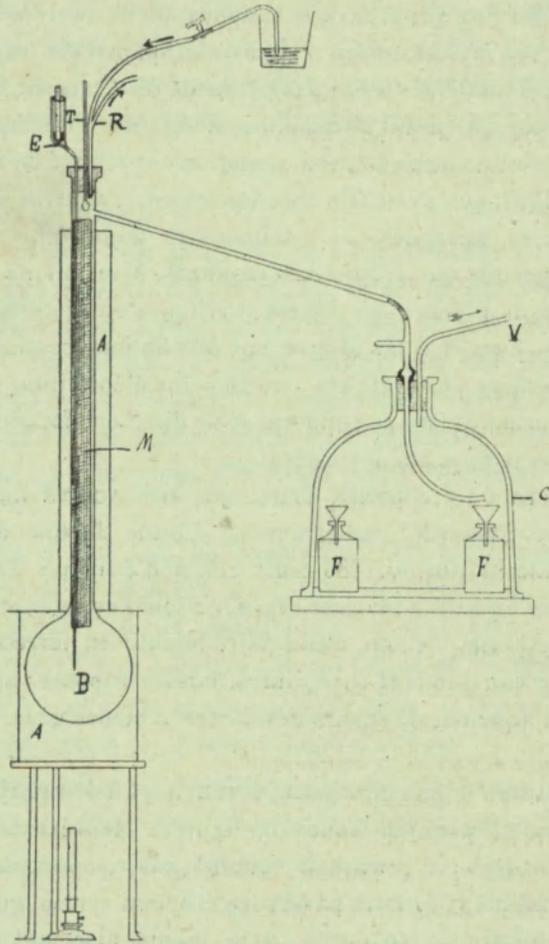


Fig. 2. Appareil de M. Bull pour la distillation fractionnée sous pression réduite. **B.** Ballon à distillation. — **M.** Toile métallique enroulée. — **E.** Entonnoir muni d'une longue tige flexible. L'orifice de l'entonnoir est fermé par une tige en verre armée d'un caoutchouc. — **T.** Thermomètre. — **R.** Réfrigérant. — **A.** Bain d'air formé par un manchon d'asbeste. — **C.** Cloche. — **F.** Flacons pour recevoir les portions distillées. La tubulure par où arrivent les produits de distillation est mobile sur un caoutchouc. — **V.** Tubulure par laquelle se fait l'aspiration.

au minimum l'usure des surfaces frottantes. La matière lubrifiante doit conserver d'une manière durable la propriété de diminuer le frottement : elle ne peut s'épaissir à l'air ni contenir des acides pouvant attaquer les métaux.

Pour déterminer la valeur d'une huile de graissage, il faut faire les essais suivants :

1. *Acidité*. On opère par le procédé général, par titrage.

2. *Viscosité*. — Elle est déterminée à l'aide de l'appareil Engler par comparaison avec l'eau à différentes températures.

a) On détermine la vitesse d'écoulement de l'eau à la température de 20°, par exemple. On introduit 240 cent. cub. dans la cuvette intérieure; on recueille 200 cent. cub. et on note le temps nécessaire à l'écoulement, soit y .

b) On sèche l'appareil soigneusement. Puis on détermine la vitesse d'écoulement de l'huile à la même température que pour l'eau. On note le temps nécessaire à l'écoulement, soit x .

$\frac{x}{y}$ = le chiffre de viscosité de l'huile à 20°.

Il faut avoir soin de filtrer les huiles, avant l'opération ; elles ne peuvent renfermer de particules solides ; si l'on doit opérer avec des huiles épaisses, il faut filtrer à chaud.

3. *Le dosage des matières insaponifiables*. — On opère de la façon suivante d'après la méthode de Bull. Prendre 5 gr. d'huile, ajouter 10 cent. cub. de solution alcoolique double normale de potasse caustique, chauffer $\frac{1}{4}$ d'heure au bain-marie, ajouter 35 cent. cub. d'eau et verser dans une éprouvette graduée de 100 cent. cub. Ajouter 15 c³ de glycérine et 50 cent. cub. d'éther. Agiter, laisser reposer. La solution étherée contenant les matières insaponifiables surnage et se sépare de la solution aqueuse. On prend 15 à 20 cent. cub. de la solution étherée, on distille l'éther, on sèche le résidu. — On pèse et on calcule.

4. Quelquefois il est nécessaire de *rechercher la présence des acides minéraux*. On agite l'huile avec de l'eau, on sépare la partie aqueuse, dont on prend l'acidité. Si elle est acide, on détermine la nature des acides par les procédés ordinaires.

III. — LA COLLE DE POISSON

Les parties de poisson avec lesquelles on peut préparer de la colle sont : les têtes, les arêtes et les vessies natatoires. Généralement on ne peut se procurer des matériaux frais en quantité suffisante et il faut les conserver dans le sel. Les produits salés doivent être traités à part, parce que la valeur des colles obtenues est très différente ; les colles de cartilages, de peaux et de vessies natatoires sont d'ailleurs de nature différente.

Si on traite des têtes et des peaux de poisson, la première opération à faire est de bien les laver, jusqu'à disparition de toute trace de chlorure de sodium. Cette substance nuit très fort au pouvoir adhésif de la colle. Dans les têtes, il est difficile de l'enlever entièrement par lavage ; on est obligé d'enlever la dernière partie dans la colle par dialyse.

La présence de matières grasses est également nuisible à la puissance adhésive de la colle. Il est utile de dégraisser les déchets de poisson, avant d'extraire la colle, en les traitant par la benzine.

L'extraction de la colle se fait à la vapeur, sous une légère pression pour les têtes. On ajoute un peu d'eau pour baigner les matières et on injecte la vapeur dans la masse. La durée de l'opération est de 4 à 5 heures.

On concentre les solutions dans un appareil à évaporer spécial. C'est une cuve rectangulaire, dans laquelle se meut lentement un serpentín chauffé à la vapeur. La moitié du serpentín émerge du liquide. On concentre la solution jusqu'à consistance plus ou moins sirupeuse. Cette colle est généralement vendue en petits flacons ; on y ajoute un antiseptique pour la conserver.

La colle de peau de raie est employée en brasserie pour le collage des bières ; il en est de même pour les vessies natatoires d'esturgeon. On les lave soigneusement pour enlever la dernière trace de sel, on les passe dans les cylindres pour les étaler et on les fait sécher au soleil. Elles sont livrées au commerce à l'état sec et les brasseurs en font des solutions concentrées.

IV. — LES CONSERVES DE POISSON.

Certaines conserves se fabriquent couramment en Belgique (les poissons salés, séchés, fumés, les sardines, etc.). Nous avons porté notre attention sur celles d'une fabrication plus difficile et qui présentent un grand intérêt pour notre pays, parce qu'on ne les y prépare pas encore : les marinades de poissons, les anchois, les conserves de crevettes, etc.

Les ennemis du fabricant de conserves de poisson sont les microbes qui se trouvent à la surface de toutes les matières organiques et les désorganisent aussitôt. Il y a trois façons de conserver les substances alimentaires :

1. Par l'emploi des antiseptiques ; ils détruisent une partie des microbes et empêchent les autres de se développer.

2. Par la stérilisation qui détruit tous les microbes.

3. En certains cas, par la préparation d'un milieu tellement concentré qu'il est impossible aux microbes de s'y développer, tels le lait condensé, les sirops, etc. Ce n'est jamais le cas pour les conserves de poissons.

Marinades, anchois, etc. — Ces préparations ne sont pas stérilisées à la chaleur, car le poisson ne peut pas être cuit ; on doit réaliser sa conservation sans employer d'autres substances que des condiments, dont le principal est le vinaigre. En Belgique, les lois et les règlements interdisent l'emploi des antiseptiques pour la préparation des conserves. Ces substances ont été jugées nuisibles à la santé et avec raison. Pour le commerce, au moins pour pouvoir le faire sur une échelle importante et à distance, il est nécessaire que les conserves se gardent assez longtemps, une ou plusieurs années. Tous les essais qui ont été faits chez nous pour préparer des marinades ou des anchois (ou plutôt de l'esprot préparé en anchois, car on ne pêche pas ce dernier poisson sur nos côtes) ont avorté ; on n'a pu les conserver qu'en ajoutant des antiseptiques ; sans cela les marinades ne se conservent guère au-delà d'un mois. Nous avons pu nous convaincre

qu'en Norwège les marinades destinées à une conservation de longue durée sont additionnées d'antiseptiques.

Tous les produits vendus chez nous viennent de l'étranger ; ils sont conservés à l'aide d'antiseptiques ; il y a des pays où l'emploi de ces substances n'est pas défendu et ils nous envoient leurs conserves. Il y a lieu de se demander si on ne devrait pas user d'une certaine tolérance vis-à-vis de cette industrie et fixer une limite maxima d'antiseptique à employer dans la fabrication de ces produits, comme on le fait pour d'autres substances alimentaires, le vin blanc sucré, par exemple. Naturellement il faut sauvegarder avant tout la santé publique, mais il faut aussi concilier ses intérêts avec ceux de l'industrie. Si l'on veut proscrire absolument l'emploi des antiseptiques pour ces fabrications et faire observer rigoureusement la loi, on supprimera radicalement cette industrie.

Conserves de crustacés : crevettes, etc. — On fait une pêche importante de crevettes sur le littoral belge ; elle est tellement abondante, à certains moments, qu'il n'est plus possible d'écouler les produits, si ce n'est à vil prix ; il est même parfois nécessaire d'arrêter la pêche. Il y aurait grand intérêt à pouvoir mettre les crevettes en conserve. Quel est le moyen à employer ? Nous avons réussi assez bien à les conserver à l'aide d'une sauce au vinaigre et un léger chauffage sans addition d'antiseptiques ; mais le goût en était trop fort à cause de la trop grande quantité de vinaigre nécessaire et, à la longue, ces conserves perdaient leur saveur spéciale.

Comme la crevette se mange cuite, il serait possible de stériliser ; mais cette opération présente des difficultés. Lorsqu'on chauffe des crevettes dans des boîtes en fer blanc, l'étain est attaqué et les crustacés prennent un goût métallique très prononcé. En les enveloppant dans un sac en toile, ou dans du papier parcheminé ou en employant du fer blanc verni, on ne les protège pas entièrement. Il serait nécessaire de les stériliser en bouteilles, mais cette façon est beaucoup plus délicate.

Les crustacés en conserve qui nous viennent de l'étranger sont conservés dans des boîtes métalliques grâce à l'addition d'antisep-tiques ; de cette façon on ne doit pas les stériliser. On les protège contre l'action de l'étain à l'aide des moyens signalés plus haut.

Ces questions ne sont donc pas plus résolues à l'étranger que chez nous.

Stérilisation des boîtes de conserves. — Il y a différents moyens de détruire les microbes, mais pour les conserves de poissons on ne peut employer que la chaleur. Certaines personnes pourraient s'étonner de ce que cette opération présente des difficultés, puisqu'on connaît la température à laquelle tous les microbes sont détruits. Quoi de plus facile ? Il suffit de chauffer en autoclave 1/2 heure à 120° ou 1 heure à 110°. Il n'y a pas de microbes qui puissent résister à cette température. Cela est parfaitement exact, mais le problème industriel est tout autre. La stérilisation à haute température altère tellement les substances qu'elles ne sont plus susceptibles d'être consommées ; les boîtes ne peuvent résister à la pression qui se développe à l'intérieur pendant le chauffage ; il faut faire un trou pour laisser fuir la vapeur et il faut le souder ensuite sans avoir laissé rentrer de l'air ou des poussières.

Dans le public, on croit généralement qu'il suffit de soustraire les substances à l'action de l'air pour les conserver. Malheureusement, il n'en est rien. M. Pasteur et d'autres savants bactériologistes nous ont fait connaître des microbes, qui non seulement n'ont pas besoin d'air pour se développer, mais ne se développent qu'en l'absence d'air ; ce sont tous des microbes de la putréfaction que le fabricant de conserves doit combattre et qui transforment ses conserves en produits infects.

Le procédé de stérilisation généralement suivi en Norwège et au laboratoire de Bergen est le suivant : on chauffe les boîtes à l'autoclave pendant 3/4 d'heure à 115°.

A notre avis, cette question n'est pas résolue ; elle devrait être étudiée pour chaque espèce de substance à conserver, car les éléments du problème varient trèsfort.

On a fait, au laboratoire d'Ostende, beaucoup d'essais pour déterminer les conditions de stérilisation des principales conserves de poisson : ils seront poursuivis et feront l'objet de publications ultérieures.

V. — PEINTURE SOUS-MARINE.

On sait que la coque des bateaux en bois et autres constructions des quais et des ports sont attaqués par des animaux marins et des plantes qui produisent beaucoup de dégâts. Le taret particulièrement produit des ravages considérables au point qu'il a été appelé *calamitas navium* ; il perfore de galeries les bois les plus durs au point d'en amener la destruction complète. Il est très abondant sur le littoral belge. On s'est préoccupé de tout temps des moyens de le détruire et de préserver, de son attaque, les bois immergés dans la mer. La coque des bateaux est généralement recouverte d'enduits (goudron, créosote, peintures) ou de minces plaques de cuivre destinées à les protéger. Ces moyens sont plus ou moins efficaces, mais toujours coûteux. M. Bull a fait l'étude d'une peinture sous-marine qui présente un grand intérêt. Il a tâché d'obtenir une peinture qui pourrait résister aussi bien que possible à l'action dissolvante de l'eau de mer et à son action mécanique, et d'y incorporer des substances toxiques (sels de cuivre) pour les animaux qui se fixent sur la coque des bateaux. Nous allons exposer brièvement la préparation de la formule dont il a fait l'étude.

Préparation de peinture sous-marine d'après la formule H. Bull.

— On prépare d'abord les solutions suivantes :

1. Na OH	74. gr 4	par litre
2. Cu SO ₄	232	» »
3. Zn Cl ₂	242	» »
4. Mn Cl ₂	184	» »
5. Ca Cl ₂	103	» »

On recherche par titrage la quantité de résine nécessaire pour saturer 331.2 cent. cub. de la solution de soude.

On prend 130 pour cent de la quantité théorique de résine de façon à obtenir un sel acide.

On fait bouillir 331.2 cent. cub. de la solution de soude ; on y introduit les 130 % de résine broyée et après complète dissolution on ajoute :

31.4	cent. cub. de la solution 2.				
173.4	»	»	»	»	3
1.1	»	»	»	»	4
120.9	»	»	»	»	5
326.8					

Aussitôt après, on ajoute 147 gr. d'huile de lin cuite.

Après addition des solutions de plus haut, on obtient un fort précipité. On pourrait le filtrer, le laver et le dissoudre dans l'huile de lin. Ce serait plus correct, mais c'est inutile : le précipité se dissout parfaitement, si on ajoute l'huile de lin en présence de l'eau.

On écarte alors la partie aqueuse qui contient du chlorure de sodium en solution.

On chauffe la masse jusque 110-112° pour enlever la dernière trace d'eau, on laisse refroidir jusque 60° et on ajoute 60 gr. de benzine du commerce et 180 gr. d'éther de pétrole ; on fait cette addition graduellement en agitant très-bien ; de cette manière on obtient une solution parfaitement claire et on ajoute 332 gr de couleur solide (rouge, ocre, etc).

On peut changer les quantités des solutions :

- Plus on ajoute de cuivre, plus la couleur est molle.
- Plus on ajoute de calcium, plus la couleur est dure.

Ces solutions s'équivalent ; si on diminue l'une de 2 cent. cub., il faut ajouter 2 cent. cub en plus de la solution de NaOH. On peut ainsi varier les quantités d'après cette règle.

A notre retour, nous avons fait de nombreux essais de préparation de cette peinture et nous avons fait des applications sur les coques de bateaux faisant régulièrement la pêche en mer. Nous avons pu en constater les bons résultats. Elle a un pouvoir cou-

vrant excellent, elle résiste bien et elle est d'un bel aspect. Le prix de revient en est très faible relativement à celui des peintures du commerce. Toutefois nous l'avons trouvée inférieure à certaines peintures employées, telles que *l'Hopzapfels internacional composition*. Elle a en outre un grand désavantage sur celle-ci : elle sèche plus lentement (un ou deux jours). Elle ne pourrait donc être employée que pour les bateaux qui sont mis en cale sèche. Or la plupart du temps, au moins sur nos côtes, les bateaux de pêche doivent être repeints entre deux marées ; c'est presque une nécessité.

Néanmoins nous pensons qu'il serait possible d'améliorer cette préparation pour répondre à ce desideratum. Il résulte de nos essais que cet inconvénient doit probablement tenir à la nature de la résine employée. D'autre part il est possible d'y ajouter des sels qui augmentent le pouvoir siccatif. Nous comptons poursuivre prochainement des essais dans ce sens.

TABLE DES MATIÈRES.

	pages.
Avant-propos	I
I. — Étude sur l'insaponifiable des Huiles et des Graisses, par J. HUWART.	1-28
II. — L'Emploi de la Sciure de Bois dans l'industrie des Huiles et du Guano de Poisson, par L. SERVAIS.	29-32
III. — Conserve de Poisson au naturel, par le D ^r M. HENSEVAL	33-37
IV. — Étude sur les caractères de l'huile d'olive ayant servi à la préparation de conserves d'esprot fumé, par le D ^r M. HENSEVAL et MAX DENY.	38-45
V. — Étude sur le noircissement de la vase dans la mer du nord, par M. HENSEVAL et J. HUWART.	46-59
VI. — Le fumage de l'esprot, par le D ^r M. HENSEVAL.	60-66
VII. — Contribution à l'étude du principe odorant de l'huile d'esprot et de l'huile de foie de morue, par L. SERVAIS.	67-72
VIII. — Étude sur l'esprot et son huile, par M. HENSEVAL.	73-88
IX. — Recherche de l'esprot dans les conserves de sardines et d'anchois, par M. HENSEVAL.	89
X. — Rapport à M. le Ministre de l'intérieur et de l'instruction publique sur la mission confiée à M. HENSEVAL, pour l'étude des questions relatives à l'utilisation des produits de la pêche maritime	90-108
Table des matières.	109