milieux ne présentent pas entre eux de grands écarts au point de vue de leur valeur nutritive. Cependant, on peut constater que ce sont les milieux 7 et 8 qui ont donné les meilleurs résultats.

E. — CONCLUSION DE NOTRE ÉTUDE SUR LES MILIEUX LAIT ÉCRÉMÉ-TRYPSINE

Il ressort nettement des faits ci-dessus exposés : 1° Qu'il est inutile de chercher à avoir un milieu encore alcalin en fin de digestion ; 2° Qu'il est indiqué d'employer une dose de 1 gramme de trypsine par litre plutôt qu'une dose moindre ; 3° Qu'il suffit de laisser la digestion se poursuivre pendant 6 jours, comme dans le milieu N° 8 (Tableau II). On peut donc résumer comme suit la préparation du meilleur milieu lait écrémé-trypsine :

Ajouter à un litre de lait écrémé stérilisé 200 cc. d'une solution stérile de trypsine à 5‰ dans la soude à 1‰. Maintenir à l'étuve à 38° et agiter 2 ou 3 fois par jour. Au bout de 6 jours porter à 120° pour détruire la diastase et clarifier, filtrer. Ramener à une très faible acidité et diluer jusqu'à teneur en azote de 1,8‰. Gélifier à 16‰, ajuster à pH 6,8-6,9, clarifier par chauffage à 115° et filtration, répartir en tubes stériles et porter 10 minutes à 110-112°. (Pour les détails, voir p. 620 et 622.)

C'est un milieu digéré et préparé dans ces conditions que nous prendrons comme *milieu-type* : *lait écrémé-trypsine.* (A suivre).

SUR LES FLORES BACTÉRIENNE ET FONGIQUE DES CAILLÉS DE LAIT

RÔLE DES SYMBIOSES DANS LA MATURATION DU CAMEMBERT

par

Mademoiselle FRANÇOISE SANSONETTI

Docteur en Pharmacie

Au moment des découvertes pastoriennes sur l'origine vitale des fermentations, les connaissances sur le lait étaient d'ordre purement chimique. Les méthodes analytiques avaient permis de séparer et de doser ses principaux constituants. En 1840, QUÉVENNE isolait la caséine, puis MULDER, DENIS, LIEBERKÜHN, MILLON et COMMAILLE, HAMMARSTEN cherchaient à en préciser la nature et les propriétés chimiques. CHEVREUIL et BROMEIS s'efforçaient de fixer la composition du beurre. Le lactose, la caséine, le beurre étaient ainsi étudiés séparément comme des corps simples. Mais la plus grande incertitude régnait sur la cause et la nature des transformations que ces mêmes éléments subissent dans le caillé, au cours de la maturation. La pratique fro-

magère, se conformant à la tradition, savait, en partant du simple lait caillé, préparer une foule de produits dont la pâte se transforme peu à peu dans son aspect, sa texture et sa consistance ; en fin de fabrication, elle acquiert une sapidité spécifique qui achève de la caractériser.

Ces modifications plastiques, massives et apparentes qui concernent à la fois les propriétés physiques et chimiques des caillés sont communément désignées du terme générique de *maturation*. L'agent de ces transformations en était inconnu lorsque PASTEUR [112] découvrit dans le lait les bactéries qui déterminent la fermentation lactique. Mais, ce fut seulement vers 1880 que E. DUCLAUX [34] put établir, après de longs travaux, le rôle primordial des ferments dans le processus de la maturation. A la suite de ses découvertes les recherches fromagères entrèrent dans le domaine du laboratoire ; ses études basées sur de nouvelles conceptions scientifiques furent le point de départ d'innombrables travaux sur les produits les plus divers. Tandis que DUCLAUX en France étudiait surtout le Cantal et le Brie, MAZÉ [100] ensuite le Gruyère, le Port-Salut, le Camembert, en Suisse, DE FREUDENREICH et ORLA-JENSEN analysaient l'Emmenthal ; la Hollande, le Danemark, l'Angleterre s'intéressaient à leur fabrication nationale ; l'école américaine travaillait surtout le Cheddar ; en Italie, GORINI [50] dirigeait ses recherches vers le Parmesan, dont il cherchait à fixer la fabrication suivant des données scientifiques. Il n'est fabrication aussi limitée et régionale soit-elle, qui n'ait pu fournir matière à d'intéressantes recherches. L'étonnante richesse de cette documentation, où se heurtent les conceptions les plus opposées, exige, en ce qui nous concerne, un travail de classification et de synthèse, plutôt qu'une analyse critique détaillée. Aussi, en nous bornant à rappeler les grandes idées directrices de la maturation, serons-nous volontairement concise.

Les conclusions relatives aux facteurs déterminant la maturation retiennent trois ordres de faits, selon qu'elles l'attribuent :

1° *A la seule action des microbes (Tyrothrix, ferments lactiques, ferments acidoprotéolytiques, anaérobies) ;*

2° *Au rôle prépondérant des diastases non microbiennes (présure, galactase) ;*

3° *A l'activité microbienne et diastasique combinées.*

1° THÉORIES EXCLUSIVEMENT MICROBIENNES DE LA MATURATION

a) **Rôle des Tyrothrix.** — De multiples analyses de caillé d'âge différent, DUCLAUX déduit que la maturation affecte surtout la caséine. D'abord solubilisée, elle se dégrade ensuite en corps de poids moléculaire plus petits tels la leucine, la tyrosine et finalement l'ammoniac ; des acides gras volatils prennent naissance : acétique, valériannique, butyrique. DUCLAUX recherche les agents de cette solubilisation ; il isole des ferments, les *Tyrothrix*, bactéries généralement alcalinisantes,

aérobies ou anaérobies, qui, grâce à une diastase qu'elles sécrètent, la caséase, dégradent la caséine. La maturation paraît donc l'œuvre des *Tyrothrix* dont l'étude est poursuivie par ROGER, GORINI, ADAMETZ.

b) **Rôle des ferments lactiques.** — L'hypothèse de DUCLAUX parut trouver une application pratique en fromagerie. ADAMETZ isole un *Tyrothrix*, le *Bacillus nobilis*, qui, ensemencé artificiellement dans l'Emmenthal, détermine une maturation parfaite. DE FREUDENREICH [45] renouvelle en Suisse les essais d'ADAMETZ. Il fabrique de l'Emmenthal avec du lait pasteurisé qu'ilensemence de *Bac. nobilis*. Il suit le développement quotidien de ces *Tyrothrix*. Au début, leur nombre augmente légèrement ; puis, *ils cessent de proliférer et disparaissent ; une flore nouvelle formée presque exclusivement de ferments lactiques envahit le caillé*. De nouvelles recherches confirment le rôle primordial des ferments lactiques ; l'usage de cultures pures sélectionnées tend à se généraliser dans l'industrie des pâtes cuites. Successivement ORLA JENSEN, BØKHOUT et DE VRIES, VINKLER et TROILI PETERSON, BARTHEL, ROSENGREN, HAGLUND et SANDBERG [64] apportèrent de nouvelles confirmations à la thèse de DE FREUDENREICH ; mais CHODAT et HOFMANN BANG [21] contestent ces conclusions. Par la suite MAZÉ [100] et GUITTONNEAU [63] mettent en lumière le rôle des ferments lactiques dans le Gruyère, le Port-Salut, le Cantal.

c) **Rôle des ferments acidoprotéolytiques.** — La coagulation du lait paraissait déterminée par deux groupes de ferments : les uns donnant de l'acide, les autres de la présure. Dès 1892, GORINI [49] découvre un groupe de bactéries sécrétant simultanément de l'acide et de la présure. Il attribue à ces ferments acidoprotéolytiques la propriété de déterminer la maturation. Ils sont susceptibles d'attaquer la caséine en milieu acide « qui domine et qui doit dominer dans la pâte du fromage de manière à donner des produits de digestion (non de putréfaction) qui caractérisent la maturation normale ». La température et l'aérobiose modifient leurs fonctions saccharolytique et caséolytique. Des représentants de cocci et de bacilles acidoprotéolytiques ont été trouvés par BURRI, BØKHOUT et DE VRIES, RUSSELL et HASTINGS, HARDING et PRUCHA, ALICE EVANS, HART et FLINT, HUCKER, MARCAS et HUYGE, BARTHEL et GERDA TROILI-PETERSON, GRIMMER, KANTARDJEFF, SADLER et KELLY, GUTSCHY, MAZÉ, GUITTONNEAU, VIRTANEN, LAXA, DALLA TORRE, dont GORINI [48] cite les travaux.

d) **Rôle des anaérobies.** — DUCLAUX avait signalé que certains *Tyrothrix*, tels les ferments butyriques vivent, en anaérobiose ; par la suite LINDET et AMMAN [88] les ont trouvés nombreux dans le Camembert. RODELLA [115] considère que la maturation est le fait des bactéries anaérobies. Cette question a été des plus controversées.

2° THÉORIE DE LA MATURATION METTANT EN JEU LES DIASTASES D'ORIGINE NON MICROBIENNE

a) **Action de la présure.** — De longue date les praticiens avaient remarqué que la vitesse, d'ailleurs variable de la maturation, dépendait en partie de la quantité de présure ajoutée au lait.

En 1893, VAN SLYKE recherche expérimentalement le rôle de la présure dans la maturation ; ses analyses confirment la haute teneur en azote soluble des fromages préparés avec une forte concentration de présure. Cette solubilisation de la caséine est attribuée à la présence dans le lab d'une diastase protéolytique, la pepsine. MARCAS et HUYGE [97] indiquent son rôle dans le fromage de Herve.

ORLA JENSEN, en 1907, signale également les propriétés solubilisantes de la présure ; mais, il considère que la pepsine est à peu près inactive au degré d'acidité correspondant à celui de la pâte. VAN DAM [138] met ensuite en évidence que la dissolution du paracaséinate de chaux par le lab est fonction de la concentration en ions H^+ . Il conclut que les microorganismes ne peuvent peptoniser la caséine aussi profondément que le fait la présure ; l'action solubilisante du lab, qui revient à la chymosine, est étroitement liée à l'acidité actuelle du milieu.

b) **Action de la galactase.** — BABCOCK et RUSSELL [2] pensent au contraire que la maturation doit être attribuée à une diastase unique, préformée dans le lait et qu'ils ont isolée : la galactase. La maturation possible en caves froides leur apparaît comme la preuve évidente de l'activité de la galactase. GORINI s'élève contre cette hypothèse en démontrant que les bactéries peuvent se développer à ces basses températures ; au surplus les micrococcus de la mamelle peuvent sécréter des diastases qui passent dans le lait même trait aseptiquement.

3° THÉORIE DE LA MATURATION BASÉE SUR L'ACTION DES MICROBES ET DES DIASTASES

Elle paraît particulièrement en faveur à l'heure actuelle. Les nouvelles recherches de VAN DAM, de GUITTONNEAU [63] apportent de sérieuses précisions en ce qui concerne le rôle de la présure seule ou associée aux ferments lactiques, dans la maturation.

Les contradictions abondent dans la science fromagère ; elles s'expliquent du fait que les connaissances sur les diastases sont incomplètes, le rôle des microbes insuffisamment déterminé, et le caillé un substratum singulièrement complexe. Nombreux sont ceux que l'expérience et la pratique amènent à modifier profondément leurs premières hypothèses. Aussi, faisant abstraction de ces divergences, avons-nous simplement essayé de dégager les grandes idées générales sur la matu-

ration, de façon à placer dans son cadre logique notre étude sur les pâtes molles. Nous nous réservons d'analyser plus particulièrement les travaux qui s'y rapportent.

HISTORIQUE DE LA MATURATION DES FROMAGES A PATE MOLLE

La maturation se présente sous deux aspects typiques reliés par une infinité d'intermédiaires :

1^o Elle se poursuit à l'intérieur de la pâte sans aucune manifestation superficielle (cas des pâtes cuites : Gruyère, Emmenthal) ;

2^o Elle est liée à la présence d'organismes sur la croûte ;

a) De bactéries (fromages lavés : Munster, Géromé, Livarot, etc.) ;

b) De Moisissures et de bactéries (fromages moisiss : Camembert, Brie, etc.).

Dans le Camembert, deux flores apparentes envahissent successivement la croûte : d'abord des Levures et des Moisissures, puis des bactéries.

La question se pose donc de savoir s'il faut faire un choix. Quel est alors l'agent réel de maturation du Camembert ?

1^o Les Moisissures déterminent-elles, seules, la maturation du Camembert ? S'il en est ainsi, cette maturation nettement spécifique n'a aucun rapport avec la maturation du Gruyère ou du Munster. L'apparition de bactéries sur le Camembert ne serait alors qu'un « incident » ou un « accident » suivant l'expression de THOM ;

2^o La maturation du Camembert entre-t-elle au contraire dans le cadre général ? Si les diastases naturelles (présure, galactase) ou les microbes (ferments lactiques, acido-protéolytiques, anaérobies) suffisent à déterminer la maturation, les Moisissures ne sont plus qu'un épiphénomène.

3^o Reste enfin une dernière hypothèse accordant à l'association fongique et bactérienne, la maturation du Camembert.

Les travaux se rapportant uniquement à la maturation du Camembert sont très peu nombreux. DUCLAUX [34], EPSTEIN [40], ROGER [116-117], MAZÉ [101-102], LINDET, AMMAN et HOUDET [88], MESNIL [104], ARTHAUD, BERTHET [1], LOUBIÈRE [90], WEIDMANN [143] ont envisagé plus ou moins directement cette question. L'école américaine a apporté un sérieux tribut avec les travaux de CONN [25], THOM [131, 132, 133, 135, 136], STOCKING, ISAJEFF [70], DOX [33], DOANE [31], BOSWORTH [8].

DUCLAUX [36] met en évidence la production de caséase chez le *Penicillium*. Il n'attribue cependant aux Moisissures qu'un rôle secondaire ; elles se bornent d'après lui à réduire l'acidité du caillé, afin de permettre le développement ultérieur des agents de la maturation qui pour lui sont les *Tyrophrix*.

Pour EPSTEIN [40], l'affinage du Camembert est uniquement l'œuvre des bactéries ; les Moisissures ne jouent aucun rôle ; elles paraissent même inutiles. Il mentionne cependant que, dans le Brie, le *Penicillium album* dégrade la caséine. ROGER [117], au contraire, voit dans le *Penicillium* un élément essentiel ; son action doit se combiner à celle de bactéries déterminées qui achèvent la maturation.

Les travaux de l'Ecole américaine attribuent aussi à la Moisissure un rôle primordial. CONN [25] et THOM [131] considèrent que le changement de texture de la pâte est dû au *Penicillium camemberti* ; ses diastases provoquent la solubilisation de la caséine à de fortes distances du mycélicum. L'*Oidium lactis* est une Moisissure constante du Camembert ; sa présence paraît liée à l'arôme. Les recherches pour isoler une bactérie spécifique sont toujours demeurées infructueuses ; de même, lesensemencements sur fromages frais, de bactéries prélevées à l'intérieur, ou sur la croûte de fromages affinés, n'ont donné aucun résultat.

Les conclusions de MAZÉ [102] sont tout autres : les Moisissures ne doivent attaquer la caséine que pour subvenir à leurs besoins en éléments azotés. Les bactéries du « rouge » arrêtent le développement des Moisissures, et alcalinisent les couches superficielles par la production de NH_3 . La maturation proprement dite est l'œuvre des diastases que les ferments lactiques ont régulièrement déposées dans la totalité de la pâte. Leur activité ne deviendra effective qu'en milieu alcalin. De là le sens centripète de la maturation. L'action solubilisante de NH_3 sur la caséine vient compléter sa digestion diastatique.

ARTHAUD-BERTHET [1] a isolé un *Oidium*, qu'il considère un élément spécifique du Camembert. MAZÉ constate d'ailleurs que, dans les bonnes fabriques, on attribue plus d'importance à l'*Oidium* qu'à la Moisissure.

LINDET, AMMAN et HOUDET [88] concluent que « les acides gras du Camembert présentent une odeur franche d'acide butyrique et distillent à la façon de celui-ci ; ils ne renferment pas d'acide lactique même au début... On ne peut donc admettre, comme on le faisait jusqu'ici, que l'acide lactique apparaît au début et se trouve ensuite brûlé par les Moisissures ». Ils ont isolé des ferments butyriques nombreux.

En résumé, l'ensemble des travaux sur la maturation du Camembert sont contradictoires : DUCLAUX soutient sa thèse des *Tyrothrix* ; MAZÉ se range à la théorie des ferments lactiques de FREUDENREICH ; LINDET paraît faire grand cas des ferments butyriques anaérobies. Enfin, d'autres voient uniquement dans les Moisissures, ou dans des bactéries insuffisamment déterminées, les agents de la maturation du Camembert.

Nous nous sommes proposé de préciser quels sont les agents réels

de la maturation du Camembert, et quel est leur rôle respectif. Nous avons divisé notre travail en trois parties :

I. — PREMIÈRE PARTIE. — Elle est réservée surtout aux travaux effectués dans différentes usines de Camembert normandes. Nous avons étudié la composition de la flore des *fromages normaux* ; puis, nous avons cherché en quoi elle diffère de celles des *fromages présentant des défauts*.

L'étude du pH des fromages a mis en évidence que ces deux flores de composition différente entraînent sur les fromages des réactions de sens opposés.

Nous nous sommes efforcée d'isoler et d'identifier les organismes prédominants de ces deux flores.

II. — DEUXIÈME PARTIE. — La pratique journalière montre que la fabrication est anormale lorsque :

- 1^o le salage est trop faible ou exagéré ;
- 2^o que les laits sont trop acides ;
- 3^o que l'égouttage est insuffisant,
- et 4^o que la température est trop élevée.

Nous avons donc cherché dans cette partie, quelle sélection déterminent sur les organismes isolés :

- 1^o Le salage ;
- 2^o L'acidité ;
- 3^o La température ;
- 4^o Les symbioses.

III. — TROISIÈME PARTIE. — Après avoir ainsi fixé l'influence du milieu sur les organismes, nous cherchons quelles transformations le milieu subit à son tour sous l'influence des Moisissures et des bactéries. L'action sur la réaction du milieu est nettement définie dans cette partie de notre travail, ainsi que les rapports entre la réaction du milieu et la destruction du lactose. Nous examinons ensuite l'effet des diastases de ces organismes.

En reproduisant sur le caillé stérile les phases successives de la fermentation, nous pensons être fixé sur les agents de la maturation ; les conditions d'une maturation normale en découlent. (1)

(1) Nos vifs remerciements vont à nos maîtres de la Faculté de Pharmacie de Paris, MM. RADAIS, LUTZ, ainsi qu'à tous ceux qui par leurs conseils et leur bonne grâce nous ont facilité nos recherches : MM. KAYSER, ROLLINO, ALBA, SAFFREY, HÉBERT, le Prof. CH. PORCHER, MAZÉ, GUITTONNEAU, MESNIL.

Ce fut notre préoccupation constante de rapporter nos expériences aux observations qu'il nous a été donné de faire dans les usines de la *Société Laitière des Fermiers Normands*, à Aunay, Bernières, Coulibœuf, ou à l'usine de M. Saffrey, dans le pays d'Auge.

PREMIÈRE PARTIE

GENERALITES

FABRICATION DU CAMEMBERT

Les laits frais, peu acides, titrant une assez grande quantité de matière grasse, sont les laits de choix pour la fabrication du Camembert, qui est très délicate. Les marques réputées n'emploient qu'une infime quantité de lait partiellement écrémé. Le caillé provenant de ce lait moins gras, et dont on garnit uniquement le fond des moules, n'adhère pas au store, et facilite le retournage.

Le lait chauffé aux environs de 28° est additionné d'une quantité de présure variable avec l'acidité du lait ; elle est calculée en sorte que la coagulation s'achève en 3/4 d'heure. On procède alors au remplissage de moules cylindriques, percés de trous, et rangés sur de longues tables en bois recouvertes d'un store. Le caillé, qu'on prélève avec des cuillers de même diamètre que le moule, est versé avec précautions de façon à le briser le moins possible. Le remplissage doit être achevé en 4 heures. Pour que l'élimination du sérum se poursuive d'une façon régulière, la température des salles de fabrication doit être maintenue à 22° environ. La durée de l'égouttage est variable et dépend de l'acidité des laits, de la dose de présure et de la température ambiante.

Lorsque le caillé est suffisamment égoutté et que la face appliquée contre le store est assez résistante, on retourne le moule et son contenu sens dessus dessous ; l'égouttage se poursuit ; on retire les moules lorsque le bloc de caséine a atteint une certaine consistance déterminée empiriquement. Le salage s'effectue à la main avec du sel fin et sec. On sale d'abord le pourtour et l'une des faces, puis les fromages sont placés sur des plateaux secs en bois recouverts ou non d'un store sec. On les transporte au saloir où l'on sale l'autre face.

Il est d'usage courant dans l'industrie d'ensemencer lait ou caillé, selon le cas, avec des Moisissures et des bactéries sélectionnées, de façon à obtenir une fermentation aussi régulière que possible. Cependant la présence de ces ferments ne saurait à elle seule assurer une maturation normale. Le lait se trouve contaminé par une foule de germes ; la moindre erreur dans l'appréciation de l'égouttage, dans le salage, ou dans la température du milieu, suffit à faire prédominer certaines espèces au détriment des qualités du produit. Aussi cette fabrication est-elle des plus difficiles à diriger ; sa technique est des plus variables ; elle a à tenir compte non seulement d'une matière première des plus changeantes dont elle voudrait pourtant tirer un produit toujours identique à lui-même, mais encore de l'état hygrométrique et de la température qui jouent ici un rôle de premier plan.

Lorsqu'au sortir du saloir les fromages présentent quelques défauts, il est ensuite bien difficile d'y remédier dans les haloirs. Les premiers

jours, la surface des fromages devient grasse au toucher; elle prend une teinte légèrement crémée ; puis la Moisissure apparaît et forme un feutrage blanc. Quand la couche mycélienne est jugée assez épaisse on retourne les fromages sur les clayons de façon que les deux faces soient également couvertes de *Penicillium*. On arrête la croissance de la Moisissure en posant les fromages sur une planche pleine en bois qu'on transporte au séchoir. Tous les deux jours on retourne les fromages sur des planches propres ; sur certains points de la croûte apparaissent des zones rouges ; les bactéries envahissent la surface ; l'odeur devient légèrement ammoniacale. L'affinage proprement dit commence ; il s'achèvera dans des caves spéciales.

FLORE SUPERFICIELLE DES CAMEMBERTS

De nos séjours aux usines d'Aunay et de Coulibœuf, et de nos visites à Bernières et à l'usine de St-Loup, nous avons rapporté près de 500 coupes de caillé. C'est dire que l'étude de la flore des fromages des différentes usines a fait l'objet de toute notre attention.

Prélèvement, coloration et montage des préparations. — A l'aide d'une aiguille flambée on prélève une parcelle de fromage soit en surface, ou sous la croûte, ou en profondeur. On l'étale sur une lame flambée. Après fixation à l'alcool-éther, on colore au bleu de méthylène. Ces coupes se conservent montées sur gélatine phéniquée (gélatine : 7 gr. ; eau : 42 gr. ; glycérine : 50 gr. ; acide phénique : 1 gr. ; fondre au bain-marie). On recouvre la préparation d'une lamelle dont on lute les bords au ripolin.

Les premiers éléments qui envahissent le caillé sont des levures. Ils sont ronds ou légèrement ovoïdes ; ces Levures appartiendraient au genre *Torula* ; elles seraient accompagnées de Mycodermes et d'autres levures qu'on ne peut identifier au microscope. Elles recouvrent aussi bien les fromages salés que non salés.

a) **FLORE DES FROMAGES BIEN SALÉS.** — Après les Levures apparaissent les Moisissures : un *Oïdium* et un *Penicillium*. Dans sa forme caractéristique l'*Oïdium* se présente sous l'aspect d'éléments rectangulaires : les oïdies ; il prend également la forme filamenteuse ; ses filaments sont beaucoup plus larges que ceux du *Penicillium* ; ils se terminent en forme de fourche. On considère généralement que c'est l'*Oïdium* qui se développe de suite après les levures ; ce ne serait que plus tard qu'il laisserait pointer les filaments du *Penicillium*.

D'une façon constante, nous avons cependant observé que lorsque les premières oïdies apparaissent, le caillé porte aussi des filaments mycéliens. Ceux-ci n'ont pas l'épaisseur de ceux de l'*Oïdium* ; ils ne sont pas hyalins comme ces derniers ; ils présentent les caractères de filaments de *Penicillium*. On ne peut différencier les filaments des Moisissures d'après la fructification, car il est de règle dans l'industrie d'écraser la Moisissure avant son complet développement.

Au moment de l'affinage, les bactéries du rouge succèdent par place aux Moisissures ; ces bactéries aux formes variées ne se colorent pas toutes par la méthode de Gram.

C'est surtout par leur teneur en *Oïdium* que se distinguent les flores des fromages des différentes usines. Très probablement la disposition, l'orientation et l'aération des locaux doivent favoriser dans certaines usines le développement du *Penicillium*. Cependant, dans la plupart des cas, c'est contre l'*Oïdium* que le praticien doit lutter. A l'usine de Bernières où le salage est pourtant très léger, nous avons trouvé relativement peu d'*Oïdium* ; dans d'autres usines, avec un égouttage aussi poussé, et un salage beaucoup plus fort, l'*Oïdium* est cependant plus largement représenté.

A l'entrée de l'hiver, on retarde le salage ; à ces époques de transition la fabrication n'est pas toujours normale ; les examens microscopiques à l'usine de St-Loup n'ont pas cependant montré un développement exagéré de l'*Oïdium*. Nous avons été frappée dans cette usine de M. SAFFREY de la très large aération des haloirs ; il est permis de se demander si cette aération n'influe pas à certains moments d'une façon très heureuse sur la composition de la flore des fromages.

b) **FLORE DES FROMAGES INSUFFISAMMENT SALÉS.** — Un fait attire l'attention au premier abord : ces fromages sont très peu couverts de *Penicillium* ; parfois même ils ne portent la moindre trace de Moisissure. Au début du halage l'*Oïdium* est largement représenté sous la forme d'oïdies ; mais si l'on fait des prélèvements dans la gangue rougeâtre qui recouvre ensuite ces fromages, on trouve de très nombreuses bactéries. Parmi celles-ci apparaissent des bâtonnets longs et grêles ; nous avons là une forme de souffrance de l'*Oïdium* ne présentant plus aucun des caractères morphologiques de l'espèce.

D'une façon constante, le *Penicillium* ne se développe pas en absence de sel ; l'*Oïdium* et des bactéries recouvrent la croûte ; le fromage coule. Sur les fromages bien salés couverts d'*Oïdium* et de *Penicillium*, le rouge apparaît en temps opportun et la maturation est normale.

MÉTHODE DE DOSAGE DE L'ACIDITÉ DU CAILLÉ pH DES FROMAGES

Depuis les travaux de DUCLAUX, il est établi que l'acidité du Camembert diminue en cours de fabrication ; la réaction devient même alcaline pendant l'affinage. Parallèlement à l'étude de la flore des fromages, nous tenions à suivre les variations de leur réaction. Pour mener à bien ce travail dans les centres de production il nous fallait une méthode de dosage rapide, précise, n'exigeant qu'un matériel limité. Dans ce but nous avons comparé la valeur des différentes méthodes susceptibles de doser l'acidité des caillés.

A. — DÉTERMINATIONS TITRIMÉTRIQUES DE L'ACIDITÉ LACTIQUE

I. — **Méthode alcalinimétrique.** — C'est la méthode la plus courante ; on triture un poids connu de caillé avec de l'eau ; on dose l'acidité du mélange à l'aide d'une solution titrée de soude ; on prend comme indicateur la phtaléine.

Cette méthode est peu précise :

1° Le virage de la phtaléine étant lent et progressif, on ignore le moment exact où l'on doit arrêter l'addition de soude ;

2° La phtaléine vire en milieu alcalin ($pH = 8,3$ environ) et non à la neutralité vraie ($pH = 7$) ; un milieu légèrement alcalin peut donc apparaître acide vis-à-vis de la phtaléine ;

3° En ajoutant 5 cm^3 de $\text{NaOH N}/10$ à une émulsion de caillé neutre nous n'en avons retrouvé que 3 cm^3 2 (dosage par $\text{SO}_4\text{ H}^2\text{ N}/10$ en présence de phtaléine).

Il s'ensuit donc que dans une émulsion de caillé une partie de la soude versée se combine à un élément autre que l'acide lactique ; c'est la caséine.

II. — **Dosage de l'acide lactique à l'état d'aldéhyde.** — Une solution sulfurique d'acide lactique oxydée par MnO^*K se transforme en aldéhyde éthylique qu'on dose par différentes méthodes.

a) **MÉTHODE de JÉRUSALEM [76].** L'aldéhyde se transforme en iodoforme en présence d'une quantité d'iode connue et en excès. On dose cet excès par l'hypo-sulfite de soude ; on en déduit I^2 passé en combinaison avec l'aldéhyde formée, dont on connaît ainsi la quantité.

b) **MÉTHODE de SOBOLEWA et ZALESKI [128].** L'aldéhyde est dosée au moyen de pyrrol, par colorimétrie.

c) **MÉTHODE de BELLET [11].** On utilise les propriétés réductrices de l'aldéhyde sur une solution argentique-ammoniac-magnésienne.

Ces différentes méthodes ne sont pas d'une application pratique dans les centres de production.

III. — **Dosage de l'acide lactique après salification.** — a) **MÉTHODE de MAHEU [94].** En présence de Co^*Ca l'acide lactique donne du lactate de chaux ; on titre la chaux ainsi dissoute. On la précipite à l'état d'oxalate de chaux ; on décompose ce sel ; on titre l'acide oxalique par MnO^*K . De cette valeur on déduit le poids de Ca primitivement combiné à l'acide lactique.

b) **MÉTHODE de SUZUKI et HART [130].** Cette méthode a été appliquée à un dosage d'acide lactique résultant de la décomposition d'un poids connu de lactate de chaux ajouté au fromage. On épuise l'acide lactique par l'éther ; après maintes manipulations on forme du lactate de zinc qu'on pèse.

Cette méthode est réservée au laboratoire.

c) **MÉTHODE au ZINC.** — Nous avons essayé d'après DENIGÈS [30] de titrer volumétriquement le zinc pouvant se combiner à de l'acide lactique titré, au lait, et au petit-lait. On additionne les liquides de ZnO fraîchement précipité ; on porte à l'ébullition qu'on prolonge $1/2$ heure. On dose le zinc dissout par le ferrocyanure de potassium titré ; comme indicateur on prend l'azotate d'urane. ZnO étant insoluble, la quantité mise en excès est éliminée par filtration.

Nous n'indiquerons pas les détails de la technique (voir DENIGÈS), car avec des solutions titrées acides les erreurs par défaut atteignent 15 %. A titre d'indication nous mentionnerons que la caséine du lait précipite ; l'erreur possible due

à l'absorption de Zn par cette dernière est éliminée du fait de la filtration. D'après cette méthode un lait dont 10 cm³ sont neutralisés par 1 cm³ 8 de NaOH N/10 (acidité 1 gr. 62 d'acide par litre) aurait en réalité une acidité de 0 gr. 72 calculée en acide lactique, par litre. L'acidité du lait titrée par la soude serait en moyenne 2,2 fois trop forte ; ces chiffres doivent nécessairement comporter une erreur de 15 % qui rend moins accusée la différence entre la méthode alcalinimétrique et la méthode au zinc.

B. — DÉTERMINATION DE L'ACIDITÉ IONIQUE

Devant la difficulté de fixer avec précision, par voie chimique, le quantum de l'acide lactique, nous n'avons eu d'autre ressource que déterminer le pH des fromages. Nous ne disposions à cet effet que de la méthode colorimétrique de CLARK et LUBS [22]. Sans doute elle n'est pas au-dessus de toute critique ; la nécessité d'émulsionner le fromage dans l'eau, la présence des protéines et de NaCl peuvent modifier l'équilibre des ions.

Nous n'attribuerons donc pas une valeur intrinsèque absolue aux pH que nous avons déterminés sur les fromages. Ils semblent néanmoins, dans la valeur relative des uns par rapport aux autres, donner une image exacte de la marche des phénomènes.

pH DES FROMAGES

RAPPORTS AVEC LA FLORE SUPERFICIELLE

Ces déterminations du pH se rapportent à la fabrication d'été de l'usine de Coulibœuf.

Technique. — On pèse 1 gr. de caillé prélevé en surface en couche mince ; on le délaye dans 10 cm³ d'eau bouillie ramenée à pH = 7 à défaut d'eau distillée ; par trituration on obtient une émulsion homogène. Dans un tube en pyrex de même diamètre que ceux de l'échelle de CLARK et LUBS, on verse avec des pipettes bien sèches :

a) 1 cm³ d'émulsion de caillé ou de fromage ;

b) 3 cm³ d'eau neutre pour éclaircir la masse.

c) des réactifs colorants propres à la détermination du pH cherché, en quantité correspondant à 1 cm³ d'émulsion primitive. On prépare un tube compensateur avec 1 cm³ d'émulsion de caillé et 3 cm³ d'eau neutre. On recherche, dans l'échelle étalonnée de CLARK et LUBS, le tube qui, superposé au tube compensateur, reproduit la même teinte que l'émulsion de fromage.

De l'identité des teintes, avec un même colorant, on déduit l'identité des pH.

Résultats. — Nous avons trouvés les pH suivants :

Caillé en moule	pH = 4,2 à 4,6
Fromages bien salés : 5 ^e jour	= 5,8 à 6,4
12 ^e —	= 6,4 à 6,6
Fromages trop peu salés : 5 ^e jour	= 6,4 à 7,2
12 ^e —	= 8,4 à 8,6

pH des fromages bien salés. — Pour suivre plus aisément les

variations du pH des fromages, nous traçons ci-dessous la courbe des pH en fonction du temps.

Fig. 1. — Variation de pH des fromages bien salés (—), trop peu salés (---)

La courbe des fromages *bien salés* montre que :

1^o l'acidité diminue depuis la mise en moule jusqu'au moment de l'affinage ; le pH passe de 4,3 en moyenne à 6,5 ;

2^o la neutralisation de la pâte est irrégulière. On distingue :

a) une assez brusque neutralisation partielle (portion AB de la courbe) ; on passe de $pH = 4,2$ à $pH = 6,2$. Quand $pH = 6,2$ les Moisissures (*Penicillium*, *Oidium*) forment un léger duvet ;

b) une variation très faible du pH pendant le développement de *Penicillium* (portion BC de la courbe) ; parfois même le pH semble demeurer constant du 5^e au 12^e jour de fabrication ; il passe à peine ici de 6,2 à 6,5 ;

3^o La réaction est encore acide : $pH=6,5$ quand les fromages sont portés au séchoir (12^e jour de fabrication en été).

pH des fromages insuffisamment salés. — Les cinq premiers jours la réaction est légèrement *moins acide* qu'avec les fromages bien salés ; elle varie entre $pH = 6,4$ et 7,2, au lieu de $pH = 6,2$ pour les fromages normaux.

Du 5^e au 12^e jours, le pH augmente ; le milieu devient alcalin et son pH atteint 8,5 en moyenne.

D'après cette étude, voici ce qui distingue les fromages bien salés des insuffisamment salés :

1^o Réaction à la fin du halage : *acide*, de $pH = 6,4$ pour les fromages bien salés ; *alcaline*, de $pH = 8,5$ avec une dose insuffisante de sel ;

2^o Allure de la neutralisation de la pâte. Les fromages trop peu salés

se neutralisent et s'alcalinisent en suivant un mouvement uniforme et régulier. Avec les fromages bien salés, la neutralisation n'est pas progressive ; il est des points d'inflexion, et au moment où le *Penicillium* se développe, elle subit presque un temps d'arrêt ;

3^o *Flore superficielle*. Nous avons précédemment montré que les fromages bien salés sont couverts d'*Oidium* et de *Penicillium* ; le « rouge » leur succède. Le *Penicillium* ne se développe pas avec un salage insuffisant ; l'*Oidium* et des bactéries envahissent la croûte des fromages ; cette flore est alcalinisante.

Ces deux flores de composition différente déterminent donc sur le caillé deux réactions de signe contraire. (A suivre).

ACTION FAVORISANTE DU *BACILLUS SUBTILIS* DANS LA FERMENTATION LACTIQUE. — LE « RATTRAPAGE » DU LAIT (1).

par

Ch. PORCHER,

et

L. LAMBERT,

Docteur ès-Sciences physiques.

Docteur-Vétérinaire.

Les microbes capables de sécréter de l'acide lactique au cours de leur développement sont extrêmement nombreux, et la classification la plus moderne et la plus rationnelle nous en a été donnée par ORLA-JENSEN (2). D'autre part, une notion extrêmement intéressante a été mise en valeur par C. GORINI (3) dans de nombreuses publications : c'est celle de l'existence de ferments producteurs à la fois d'acide lactique et de présure, capables par conséquent d'amener la coagulation du lait alors que celui-ci n'a pas atteint une acidité suffisante pour que, sous l'action de l'acide lactique produit, il puisse se former une précipitation de caséine. Le coagulum obtenu dans ces conditions participe à la fois, au point de vue chimique, de la caséine-présure et de la caséine-acide.

Nous savons que l'acidité facilite l'emprésurage (4), et dans ces conditions, pour peu que les ferments lactiques aient une qualité présurigène accentuée, la coagulation du lait apparaîtra plus vite.

A regarder les choses de haut, et en s'appuyant sur les acquisitions de la biologie générale, nous ne devons pas être surpris des faits relevés par C. GORINI et que ses publications successives ont multipliés en

(1) Cet article est extrait d'une thèse de Doctorat vétérinaire présentée devant la Faculté de Médecine de Lyon, et faite dans mon laboratoire (Ch. P.).

(2) ORLA-JENSEN. — La classification des bactéries lactiques. *Le Lait*, 1924, 4, 468.

(3) C. GORINI. — Ma théorie acido-protéolytique sur la maturation des fromages. *Le Lait*, 1927, 7, 36.

(4) Ch. PORCHER. — *Le lait au point de vue colloïdal*. Th. Doct. ès Sc. physiques, Lyon, 1929, p. 258.