

REVUE GÉNÉRALE.

LA FERMENTATION LACTIQUE,

par E. KAYSER,

Directeur du Laboratoire des Fermentations à l'Institut Agronomique.

L'acide lactique découvert par SCHEELE dans le lait aigri est un produit résiduaire de la destruction des hydrates de carbone et des matières azotées ; on le trouve également dans les sécrétions des cellules vivantes, dans le suc gastrique, les sucs intestinaux, dans la chair musculaire, aussi est-il considéré comme un terme transitoire de la dégradation alimentaire que l'organisme détruit plus ou moins rapidement.

Comme il a été signalé dans la fermentation alcoolique, certains savants admirent que ce fut un stade intermédiaire entre les sucres fermentescibles et l'alcool.

C'est vers 1857 que PASTEUR démontra que la fermentation lactique était due au développement de certaines bactéries et on désigna bientôt sous ce nom toute une série de microbes produisant de l'acide lactique en plus ou moins grande quantité.

LISTER étudia, en 1878, un diplocoque appelé *bacterium lactis* ; GROTTENFELD découvrit une forme analogue un an après et lui donna le nom de *Streptococcus acidi lactici*.

Vers 1884, HUEPPE isola une bactérie lactique qui passa dans la nomenclature sous le nom de *Bac. acidi lactici* et à laquelle ce savant attribua le principal rôle dans la coagulation spontanée du lait.

Ce n'est qu'une dizaine d'années plus tard que le véritable rôle de cette bactérie fut connu, grâce aux recherches de LEICHMANN, d'une part et de GUNTHER et THIERFELDER, d'autre part ; ces savants montrèrent qu'elle produit de l'acide lactique droit.

La fermentation lactique a fait l'objet de nombreuses recherches ; elle est non seulement importante au point de vue théorique, mais joue un très grand rôle dans la pratique.

Il suffit de rappeler l'intervention utile des ferments lactiques dans les diverses industries agricoles : laiterie, beurrerie, fromagerie,

fabrication de conserves alimentaires végétales (choucroute, etc...), dans l'ensilage des fourrages, la conservation des cossettes de betteraves, leur rôle en distillerie, boulangerie, leur action néfaste dans les boissons fermentées où ils occasionnent des maladies, (vins poussés, cidres filants, bières tournées, etc...); certains microbes pathogènes de l'homme et des animaux produisent également de l'acide lactique.

On trouve des ferments lactiques dans les diverses industries que nous venons de mentionner, dans l'intestin de l'homme et des animaux, dans le sol.

On conçoit que leur nombre soit très grand et qu'on peut les différencier par leurs caractères morphologiques et leurs propriétés physiologiques.

Ils ont donné lieu à de nombreux travaux et il convient de citer les noms des savants suivants : BELJERINCK, BARTHEL, JENSEN, BERTRAND, POTTEVIN, WEIGMANN, RICHET, KAYSER, MAZÉ, LÖHNIS, de FREUDENREICH, CONN, HASTINGS, EVANS, HENNEBERG, BOEKHOUT, de VRIES, GORINI, RAHN, V. LAER, DAIRE, SMIT, STEENBERGE, etc...

On peut donner le nom de ferments lactiques vrais à ceux qui transforment intégralement les sucres en acide lactique à quelques centièmes près, sans donner lieu à des produits secondaires en notable quantité.

A côté de ces vrais ferments lactiques, il existe des pseudo ferments lactiques qui se distinguent par une production plus ou moins abondante d'acide acétique, acide formique, alcool, acide carbonique, glycérine, mannite, etc... en proportions variables avec l'espèce et les conditions de l'expérience.

Nous trouvons les vrais ferments lactiques dans l'industrie laitière.

Diverses classifications ont été proposées par BELJERINCK, WEIGMANN, JENSEN, EVANS; elles sont basées sur les formes de ces microorganismes, leurs exigences alimentaires, leurs propriétés physiologiques; nous verrons qu'elles dépendent non seulement de l'espèce étudiée, mais encore des conditions de l'expérience; ainsi la température, la présence ou l'absence d'air, la nature des sucres, celle de l'aliment azoté, la présence d'un autre microbe, etc... ont de l'importance.

On peut admettre comme caractères généraux : microbes immobiles, non sporulés, facultativement anaérobies, ne poussant qu'au bout de quelques jours dans les milieux gélatinisés ou gélosés, et, en général, sous la forme de très petites colonies.

Leur culture est assez facile dans les milieux liquides neutres ou additionnés de carbonate de chaux, ainsi ils se développent assez

rapidement dans l'eau de malt, le moût de bière, l'eau de levure autolysée, le lait, etc. . .

Leur forme est tantôt ronde, tantôt plus ou moins allongée, on a des streptocoques ou des streptobacilles, des diplocoques ou diplobacilles.

Les colonies longtemps petites peuvent grossir avec l'âge, surtout pour les espèces aérophiles ; elles peuvent présenter un aspect brunâtre ou opaque.

Dans les milieux liquides, il se manifeste souvent un trouble ; le ferment lactique peut affecter la forme floconneuse plus ou moins prononcée, elle est concomitante avec la faculté d'agglutiner la levure.

La largeur est en général un peu plus grande sur les milieux solides que dans les milieux liquides ; ces microorganismes se laissent colorer par la méthode de GRAM.

Le professeur BEIJERINCK a distingué deux groupes : les *lactocoques* végétant surtout dans la crème, prospérant entre 25° à 35° et donnant de l'acide droit ; les lactobacilles aimant les moûts de distillerie, les jus d'ensilage, de choucroute, etc. . . des températures supérieures à 30° et donnant de l'acide gauche.

Au point de vue de l'industrie laitière, JENSEN et WEIGMANN ont adopté la classification suivante :

1^{er} Groupe. a) formes rondes ou ovales — diplocoques ou diplobacilles, streptocoques ou streptobacilles — ; la forme ronde se présente plutôt à la température ordinaire, la forme allongée vers 35° ; ces espèces ne poussent que lentement et assez péniblement dans les milieux artificiels additionnés de lactose, ou encore dans le sérum ; elles se développent au contraire très bien dans le lait ou dans des bouillons peptonisés et lactosés.

Ils sont anaérobies facultatifs et coagulent le lait dans les 24 heures, de bas en haut, à des températures comprises entre 18-20° ; la coagulation est homogène, sans production de gaz ; le sérum est clair.

Ces ferments ne produisent pas plus de 1/2 à 1 % d'acide lactique (droit).

Nous pouvons ranger dans ce groupe le *Bact. lactis acidi* de LEICHMANN, le *streptococcus Guntheri*, ainsi que quelques formes glaireuses, le *Bact. lactis longi* (lait suédois), le *streptococcus hollandicus* (lait hollandais).

b) Formes en bâtonnets, deux par deux ou chaînettes plus ou moins longues, contiennent des granulations, se colorent par le bleu de méthylène, se développent mal sur gélatine, en colonies très petites, ils sont plutôt anaérobies ; peuvent donner jusqu'à 3 % d'acide dans le lait qu'ils acidifient plus lentement ; peuvent pousser

entre 15 à 40°; la température optima est 42°. Ils sont assez abondants dans les fromages où ils contribuent à la liquéfaction de la caséine.

Il y a des variétés qui produisent de l'acide inactif dans le lait, comme le *Bact. casei* ϵ , d'autres de l'acide lactique gauche comme le *Bact. Bulgare*; certaines variétés peuvent donner de l'acide droit ou inactif.

Il y en a qui produisent un peu d'acide succinique; c'est le cas pour le *Bact. casei* γ , chaînettes, bouts à bouts arrondis, et pour le *Bact. casei* δ , bâtonnet fin assez long.

2^e Groupe. — Microbes se présentant deux par deux, plutôt trapus, poussant assez bien sur gélatine, acidifient le lait de haut en bas, et poussent très bien sur les milieux artificiels; ils sont plutôt aérophiles.

Ils sont très voisins du groupe *Bact. coli*, *Bact. aérogène*; leurs colonies sont superficielles, minces, à bords inégaux, en feuilles de vigne ou demi-sphériques, donnent une coagulation fine avec bulles gazeuses, un sérum souvent trouble, goût quelquefois peu agréable.

Nous y plaçons le *Bact. acidi lactici* HUEPPE, *Bact. GUILLEBEAU*, *Bact. lactis viscosus* ADAMETZ, *Bact. diatripeticus* BAUMANN, ainsi que beaucoup d'aromatiseurs de la crème et des fromages.

3^e Groupe. — *Bact. caucasicus*, bâtonnets tantôt ténus, tantôt très longs, tantôt trapus; leur habitat est le képhir, les fromages, l'ensilage, etc...

Ils coagulent le lait lentement en donnant souvent beaucoup d'acide lactique; ils sont plutôt anaérobies, préfèrent les températures élevées de 40 à 50°.

Leurs colonies sont profondes, d'aspect laineux; ils poussent assez mal sur sérum peptonisé, gélatinisé et dans le lait.

4^e Groupe. — JENSEN l'a constitué par des sarcines et des microcoques; poussant même à 10°-20°, aérophiles; liquéfient la gélatine, coagulent le lait lentement; donnent peu d'acide lactique et pas mal d'acide acétique. L'acide lactique formé est inactif ou droit.

JENSEN a cherché à compléter ces caractères différentiels par la manière de pousser en surface, la réduction des nitrates, la production de catalase, la quantité de produits secondaires, par la production de gaz, l'action sur les diverses matières alimentaires, l'acidité produite, etc...

La présence ou l'absence de l'un de ces caractères, qu'on peut rencontrer aussi bien chez des formes rondes ou chez les bâtonnets, permet une division en deux grands groupes, le pouvoir réducteur des nitrates et la sécrétion de la catalase ne se présentant qu'avec le deuxième groupe.

EVANS, dans sa classification, fait intervenir l'action sur le lait, le pouvoir réducteur sur le tournesol, la production d'acide acétique en plus ou moins grande quantité, l'action sur le lactose, saccharose, mannite, raffinose, glycérine et salicine, le pouvoir protéolytique ; il admet aussi trois groupes de ferments lactiques.

GORINI propose de recourir pour cette différenciation aux caractères suivants : action sur le lait, aspect du caillé, rapidité de la coagulation, température optima, pouvoir acidificateur, pouvoir protéolytique, action sur la caséine, gélatine, glycérine et raffinose, dégagement gazeux, etc...

Pseudo ferments lactiques ou ferments lactiques facultatifs.

— Bâtonnets mobiles ou immobiles, ne se colorent pas par la méthode de Gram ; aérophiles, poussent bien en surface ; ne liquéfient pas la gélatine, donnent à côté de l'acide lactique beaucoup de produits secondaires, acides volatils avec gaz, produits odorants.

Nous y plaçons le *Bact. coli* ; il attaque en solution neutre la caséine, comme le font les vrais ferments lactiques ; il produit plus d'hydrogène que d'acide carbonique.

Le *Bact. aérogène* qui pousse en colonie d'aspect porcelanique, n'attaque pas la caséine, produit peu d'acide lactique (gauche ou inactif), de l'acide succinique, acide acétique, plus d'acide carbonique que d'hydrogène ; coagule faiblement le lait.

Ces ferments sont présents dans l'intestin, ils jouent surtout un rôle dans la transformation des sucres des graines, betteraves, choux, etc.

*
**

Nous allons maintenant étudier la manière de se comporter des ferments lactiques dans le lait et dans les milieux artificiels, leur action sur les hydrates de carbone, les matières azotées, voir comment interviennent la température, l'air, comment ils travaillent dans diverses conditions, quelles sont leurs sécrétions, etc.

Culture dans le lait. — GRIMM a constaté qu'on peut admettre quatre phases dans le développement du *Bact. lactis acidi* ; dans la première, il se manifeste une forte multiplication microbienne avec une faible production d'acide, elle dure 4 à 5 heures si la température est favorable ; la deuxième phase se prolonge jusqu'à la douzième heure, le microbe manifeste une activité de plus en plus grande par heure ; cette activité augmente progressivement pendant la troisième phase, c'est-à-dire à partir de la quinzième jusqu'à la trentième heure ; enfin, à la quatrième phase, le pouvoir acidifiant diminue notablement.

Les ferments lactiques poussant dans le lait sont souvent entourés à la première phase d'une capsule plus ou moins visible qui, à des températures basses, se transforme chez certaines variétés en glaire, en viscosité.

La première phase répond à la période d'incubation : le ferment lactique se multiplie seulement sans acidifier beaucoup ; sa durée dépend du traitement antérieur du lait, du nombre de ferments lactiques présents à l'origine et de la température.

Ainsi WEIGMANN a obtenu avec un lait de marché les résultats suivants :

Température.	Durée d'incubation.	Coagulation spontanée.
10°	48-72 heures.	100 heures.
15°	20-24 —	63 —
20°	12-20 —	48 —
25°	8 —	24 —
31°	7 —	22 —
37°	5 —	12 —

Plus on refroidit donc le lait, plus la coagulation est retardée ; on remarque que la durée d'incubation augmente bien plus vite que la décroissance de la température ; l'acidification dépend, en gros, de la multiplication des ferments sans qu'il y ait une proportionnalité mathématique ; comme il importe qu'ils soient nombreux dès l'origine, il faut toujours ensemercer largement ; une autre raison qui justifie cette manière de faire, réside dans la grande variabilité des ferments lactiques au point de vue de leur résistance aux agents chimiques et physiques, enfin il convient de s'en servir, lorsqu'ils se trouvent dans la deuxième phase, et on compense par cet ensemençement large les propriétés inhérentes à quelques individus seulement.

Aliments hydrocarbonés. — Les divers sucres sont plus ou moins facilement transformés en acide lactique. Certaines espèces préfèrent le lévulose au glucose, d'autres le sucre de lait au saccharose ou au maltose ; pour d'autres espèces, la faculté de faire fermenter le mannose est en raison inverse avec celle de faire fermenter l'arabinose.

Le galactose passe pour être l'héxose le plus difficile à transformer ; les ferments lactiques qui transforment le saccharose attaquent, en général, le raffinose ; ceux qui transforment le glycogène agissent également sur l'amidon et inversement.

Remarquons que la transformation du lévulose ou du saccharose peut se faire avec production de mannite qui peut, à son tour, être

attaquée notamment par les ferments lactiques appartenant au groupe des ferments floconneux ; ils produisent de l'acide lactique sans donner naissance à de l'acide carbonique.

La dulcite, l'inosite, l'érythrite, les gommés ne sont guère attaquées ; par contre, certains glucosides comme l'esculine peuvent être décomposés en esculéine et en glucose.

Il ne suffit pas de voir quels sucres les ferments lactiques peuvent attaquer ; il faut noter l'ordre dans lequel les sucres sont préférés, ainsi que la quantité d'acide formé.

D'après les recherches de JENSEN, les enzymes qui attaquent les disaccharides, paraissent être des endozymes, il se peut que les disaccharides soient de meilleurs aliments que les mono-saccharides ; JENSEN a trouvé que certains ferments lactiques formaient très facilement de la viscosité aux dépens du saccharose, mais ne pouvaient en produire avec le lévulose ou glucose.

JENSEN admet que la faculté d'hydrolyser le lactose peut servir comme caractère spécifique ; l'hydrolyse étant plus forte avec les vieilles cultures, il considère la lactase comme un endozyme.

La dose optima du sucre ou de l'hydrate de carbone est comprise entre 0,5 à 2 $\frac{0}{0}$, mais peut atteindre pour le *Streptococcus cremoris* 5 à 10 $\frac{0}{0}$.

En ce qui concerne la concentration du milieu en sucre, le nombre de cellules présentes, on trouve que l'acidité est proportionnellement plus élevée dans les milieux les moins sucrés.

Aliments azotés. — Les vrais ferments lactiques exigent des matières protéiques complexes offertes sous la forme soluble ou colloïdale (caséine du lait) ; parmi les protéines naturelles on peut citer la légumine, le gluten, en présence du phosphate de soude ; la gélatine est, par contre, un mauvais aliment.

L'extrait Liebig, la peptone de caséine, l'extrait de levure, le moût de bière se comportent comme de bons aliments azotés ; une dose de 0,5 $\frac{0}{0}$ d'azote est suffisante.

Les vrais ferments lactiques sont inaptes à décomposer les aminoacides, et par conséquent ne peuvent donner naissance qu'à la quantité d'ammoniaque qui est contenue dans la molécule protéique primitive ; les sels ammoniacaux ne leur conviennent pas non plus.

La paracaséine ou encore la caséine ayant subi l'action de la présure, sont de bons aliments ; c'est pour cette raison que les tyrothrix qui, en attaquant la caséine du lait, forment de la matière azotée soluble, leur servent de bons précurseurs, surtout si ces microbes poussent la dégradation de la matière quaternaire jusqu'au terme ammoniaque servant à neutraliser l'acidité à mesure de sa production ;

c'est encore pour la même raison que les bouillons à base d'infusion de fromage obtenue à 40-50°, peuvent rendre de grands services pour la culture sur milieu gélatinisé.

Certains ferments préfèrent la caséine, d'autres la peptone, d'autres ne font pas de différence.

Ils attaquent ces composés à l'aide d'endozymes (éreprsine) qui n'agissent qu'en solution neutre ; la dégradation peut être poussée avec ou sans intermédiaire de la peptone jusqu'au terme amino-acide ; avec les peptones, des ferments lactiques paraissent former des polypeptides non précipitables par l'acide phospho-tungstique.

Il est possible que, selon l'espèce considérée, tel ou tel aliment azoté est préféré, selon qu'il favorise ou non la sécrétion de la diastase décomposant le sucre ; aussi est-il à conseiller de comparer l'effet vis-à-vis d'un sucre en présence d'un bon et d'un mauvais aliment azoté, comme la gélatine que certaines espèces arrivent à liquéfier.

Ces aliments azotés, tout en intervenant dans la constitution de la charpente microbienne, peuvent être considérés comme des agents « tampons », c'est ce qui explique que la fermentation lactique du sucre peut être quelquefois notablement augmentée ; d'autre part, la faculté d'attaquer la caséine peut se perdre plus ou moins rapidement selon le mode de culture, selon le nombre de générations, et surtout selon l'espèce lactique.

Voici des nombres obtenus par JENSEN en additionnant le même milieu de culture de présure ou non ; ils se rapportent à l'acidité formée dans un litre de lait :

Espèces	Sans addition de présure.	Avec addition de présure.
Streptococcus lactis.....	3,4	4,5
— —	7,4	4,5
Streptobacterium casei.....	9,9	11,3
— —	11,9	13,3
— —	13,1	15,8
— —	16,0	17,1

(A suivre).