

Les considérations qui précèdent, sur la nature de la caséine-acide et de la caséine-présure, nous conduisent aux conclusions suivantes :

a) *Moins une caséine-acide est minéralisée, mieux elle a été préparée ;*

b) *Une caséine-présure bien préparée doit toujours avoir un taux de cendres dont le minimum est 7,50 % environ.*

Dans le premier cas, on aura procédé à la précipitation de la caséine en prenant de nombreuses précautions sur lesquelles nous aurons à insister plus loin ; dans le second cas, nous aurons à travailler sur un lait frais dont nulle atteinte n'aura été portée au système salin. (A suivre.)

**L'INFLUENCE DES DIFFÉRENTES TEMPÉRATURES  
DE PASTEURISATION DU LAIT  
SUR LE DÉVELOPPEMENT DES MICROBES  
ACIDO-LACTIQUES  
DU TYPE *STREPTOCOCCUS LACTIS* ET *BACTERIUM CASEI***

par

W. M. BOGDANOFF

Docent en Bactériologie.

(Travail de l'Institut de Laiterie de Wologda, Russie du Nord.)

Le processus acido-lactique est le facteur principal, dans bien des domaines de la laiterie. L'activité des microbes acido-lactiques est de la plus grande valeur pour la fabrication des divers produits dans l'obtention desquels ces germes interviennent : c'est le cas du beurre destiné à l'exportation ; c'est le cas des fromages dont le processus de maturation est sous l'étroite dépendance des manifestations de la physiologie et de la biologie des bactéries acido-lactiques. C'est pourquoi la technique de la fabrication des produits laitiers se réduit, dans le fond, à l'obtention de certaines conditions favorables au processus acido-lactique, conditions variables avec le produit à fabriquer.

Trois choses sont ici nécessaires : 1° des races appropriées de microbes acido-lactiques ; 2° un milieu alimentaire favorable ; 3° des conditions déterminées de température.

Dans la littérature russe comme dans la littérature étrangère, on trouve des indications sur ce fait intéressant que le lait ne se présente pas toujours comme un milieu favorable pour le développement des microbes acido-lactiques.

S. A. SEWERINE (« Les cultures pures dans la fabrication du beurre ». *Bulletin de la Station bactériologique agricole*, 1899 et 1900,

n<sup>os</sup> 6-7) contrôlant l'action des cultures pures, préparées par lui-même ou lui parvenant de l'étranger, est arrivé à cette conclusion, qu'en choisissant le lait pour les levains, il faut porter une attention particulière sur les propriétés du lait lui-même. Les Professeurs KNUDSEN et SORENSEN (*Centralblatt für Bacteriologie*, t. LXXI, n<sup>os</sup> 15-24, 1927, Ueber Milch als Nährboden für gewisse Milchsäurebacterien) reviennent d'une façon plus précise encore sur les propriétés des échantillons isolés du lait choisi comme milieu alimentaire pour les différentes races du *streptococcus lactis*. Dans leurs expériences, le même microbe se développait inégalement dans différents échantillons de lait. Les auteurs attribuent exclusivement ce fait aux différentes propriétés du lait, d'après sa composition chimique. Il est bien probable que le lait, non seulement de différentes vaches, mais même d'une seule vache, à différentes périodes de lactation, peut varier considérablement dans sa composition chimique et, par conséquent, dans sa valeur alimentaire pour les microbes acido-lactiques. Il est vrai que des expériences préliminaires faites dans ce sens sur trois vaches de l'Institut, pendant toute la durée de la lactation, n'ont pas donné de changements marqués dans la qualité du lait, sous ce rapport ; cela n'exclut pas, néanmoins, la possibilité de cas différents.

Sur la signification des propriétés du lait par rapport au développement du processus acido-lactique, ORLA-JENSEN, dans son dernier travail (*Centralblatt für Bacteriologie*, t. LXXX, n<sup>os</sup> 15-22, 1930, Neue Untersuchungen über die bakteriziden Eigenschaften der Milch), en se basant sur des travaux faits avec le lait aseptique de différentes vaches, en vient à la conclusion que, dans ce lait, se trouvent des matières bactéricides qui empêchent le développement normal des microbes acido-lactiques. L'addition de quelques substances : extrait de levure, extrait de fumier, caséine-peptone, etc., affaiblit considérablement cette influence entravante des matières bactéricides. Cet auteur, en chauffant le lait à 60, 63, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100°, et même jusqu'à 115° pendant 30 minutes, a constaté une amélioration du développement des microbes ensemencés, notamment à partir de 75°, ce qu'il explique par la destruction des matières bactéricides. Le fait que le chauffage à des températures plus élevées, allant de 75° jusqu'à 115-120°, exerce une influence encore plus favorable sur la culture de quelques microbes acido-lactiques, est expliqué, nous dit l'auteur, par la présence dans le lait aseptique de matières bactéricides qui peuvent supporter ces hautes températures.

La culture microbienne fut appréciée par le développement de l'acidité pendant les premières 24 heures, mais non par le dénombrement microbien.

Dans la pratique de la Station bactériologique de l'Institut de laiterie de Wologda, on a également observé plusieurs fois des cas de variation, de deux sortes : d'un côté, on enregistre des hésitations de la part des microbes, à se développer, ce qui doit tenir aux propriétés du lait lui-même ; d'un autre côté, ces hésitations semblent dépendre plutôt du degré de chauffage préliminaire du lait.

Ainsi, nous voyons que les propriétés du lait, parfois imperceptibles, dirons-nous, ainsi que la température de chauffage préliminaire du lait, ont une grande influence sur le développement des microbes acido-lactiques. Ceci est d'une grande signification pratique, puisque la technique de la fabrication des produits laitiers exige de nous la pasteurisation des matériaux de départ : a) du lait, pour la production des levains lactiques ; b) de la crème, pour la fabrication du beurre ; c) du lait destiné à la fabrication des fromages, car, dans ces derniers temps, on apporte la plus grande attention à cette intéressante question.

Est-il besoin de rappeler que l'obtention des souches de levain, dans les laboratoires, en vue de la fabrication du beurre destiné à l'exportation, exige un travail fait dans des conditions très précisées ?

C'est pourquoi, du point de vue pratique, la question de décider quelle sera la température de pasteurisation du lait la plus favorable au développement ultérieur des microbes acido-lactiques est très actuelle. Ce travail a pour but de fixer l'influence des différentes températures de chauffage du lait, sur l'accroissement des microbes acido-lactiques : *streptococcus lactis*, et *bacterium casei*, cultivés ensemble ou séparément. Un travail de cette nature, effectué sur le *streptococcus* seul, en recourant à d'autres températures de chauffage, a été fait par M<sup>lle</sup> KONOPLYEFF dans sa thèse sur les cultures sèches, et par M<sup>lle</sup> SMIRNOFF, sur les cultures liquides.

*La méthode.* — Pour éviter l'action individuelle des échantillons isolés de lait, on s'est toujours adressé au lait de mélange de l'Institut. Le lait était écrémé dans les six ou sept heures après la traite. A ce moment, comme nous pouvions déjà constater un grand développement de la microflore, on pouvait penser que le lait avait déjà franchi la phase bactéricide, pour atteindre celle du processus acido-lactique. En d'autres termes, nous avions en face de nous un lait ordinaire, assez malpropre, contenant plusieurs centaines de milliers de germes par centimètre cube.

Le lait écrémé était mis en bouteilles stérilisées de 150 cm<sup>3</sup> chacune, et chauffé jusqu'à la température fixée. Ces températures ont été les suivantes : 45°, 50°, 55°, 60°, 70°, 80° pendant 20 minutes, et 120° pendant 15 minutes.

Après chauffage, le lait écrémé et refroidi jusqu'à 30° estensemencé avec une culture fraîche de *streptococcus lactis*, dans les condi-

tions suivantes. On dilue 1 cm<sup>3</sup> de la culture dans 9 cm<sup>3</sup> d'eau stérilisée et on prend 1 cm<sup>3</sup> de la dilution pour ensemençer chaque flacon de lait. Les flacons sont soigneusement agités et mis à l'étuve à 30° pendant 12 heures. Pendant ce laps de temps, on procède à quatre observations : au bout de 6, de 8, de 10 et de 12 heures après l'ensemencement. On détermine à chaque fois le nombre de microbes contenus dans le lait. L'acidité n'a été déterminée que sur les prélèvements faits après 6 et 12 heures.

La numération microbienne a été effectuée par la méthode de numération directe de DREYER-KOROLYEFF (1).

Passons maintenant à l'examen des résultats obtenus par nous et que nous avons rassemblés dans le tableau I.

L'analyse des données de ce tableau porte aux remarques suivantes.

Le chauffage du lait jusqu'aux températures de 45° et 55°, entraîne une dépression marquée dans le développement des microbes, dépression qui se manifeste également dans la formation moindre d'acide. La température de 55° semble être la température critique, car le chauffage du lait à partir de 55° améliore petit à petit les conditions du développement des microbes, jusqu'à 120°, et nous pouvons toujours constater un parallélisme parfait entre le développement microbien et l'accroissement de l'acidité. Nous voyons donc que, par le chauffage du lait à des températures fort élevées, la valeur alimentaire de ce liquide, pour les microbes qu'on y ensemence, n'est nullement atteinte et qu'ils s'y développent comme dans le lait cru.

Ce résultat s'oppose tout à fait à l'opinion qui semblait prévaloir jusqu'à maintenant et qui voulait que le chauffage du lait à haute température le dénature à un point tel que le développement des bactéries qui y seraient ensemencées soit retardé (2).

Passons maintenant aux données de l'expérience sur l'influence qu'a le chauffage du lait sur le développement du *bacterium casei*. Cette question est également d'une grande signification pratique, puisque les microbes du type *bacterium casei*, comme ceux du type *streptococcus lactis*, jouent un rôle considérable dans la laiterie : fabrication des laits caillés russes, maturation des fromages, etc. Les expériences ont été faites avec le *bacterium casei*, qui est l'élément essentiel de la maturation du fromage suisse.

(1) Une fois de plus, nous devons faire ici mention des avantages considérables de simplicité que possède cette méthode, comparée à celle de culture sur plaques. Il nous est possible de faire 48 examens en un jour, ce que l'on ne pourrait jamais faire avec la méthode des plaques. Nous ne parlons pas des dépenses occasionnées par l'achat de la verrerie, ni du temps nécessaire pour préparer les examens.

(2) C'est à ce point de vue que se place GORINI, par exemple.

TABLEAU I.

Quantité des microbes à l'origine : 230.000.

Température de la pasteurisation	Après 6 h.		Après 8 h.	Après 10 h.	Après 12 heures		
	Quantité de microbes	Acidité	Quantité de microbes	Quantité de microbes	Quantité de microbes	Acidité	
Le lait cru ...	non ensemené	45.000.000	21°	220.000.000	410.000.000	700.000.000	60°
	ensemencé ...	290.000.000	36°	600.000.000	880.000.000	1.250.000.000	92°
45° .....	135.000.000	31°	340.000.000	510.000.000	700.000.000	60°	
50° .....	150.000.000	33°	245.000.000	350.000.000	575.000.000	57°	
55° .....	110.000.000	31°	145.000.000	190.000.000	375.000.000	48°	
60° .....	150.000.000	32°	200.000.000	230.000.000	750.000.000	64°	
70° .....	135.000.000	31°	300.000.000	510.000.000	870.000.000	82°	
80° .....	250.000.000	38°	650.000.000	800.000.000	1.000.000.000	85°	
120° .....	465.000.000	46°	685.000.000	980.000.000	1.100.000.000	90°	

La technique suivie est la même, dans ce qu'elle a d'essentiel, que celle à laquelle nous avons eu recours pour le *streptococcus lactis*. Nous n'avons changé que la quantitéensemencée. En effet, quand on n'ensemence qu'une petite quantité, la culture du *bacterium casei* est gênée par le développement de bâtonnets qui en rendent difficile la numération. Aussi est-on dans l'obligation d'augmenter la quantité de culture jusqu'à 5 cm<sup>3</sup> pour 150 cm<sup>3</sup> de lait. Dans ces conditions, le développement des susdits bâtonnets est étouffé, et la numération peut être faite sans aucune difficulté.

Dans nos premières expériences après l'ensemencement, la culture était maintenue à la température de 30°; mais, ultérieurement, nous avons utilisé des températures allant jusqu'à 40°.

TABLEAU II.

Quantité de microbes à l'origine : 400.000.

La température à laquelle on maintient le lait est 30° C.

	8 h.	10 h.	12 h.	18 h.
45° .....	10.000.000	15.000.000	20.000.000	46.000.000
55° .....	5.000.000	12.000.000	20.000.000	14.000.000
60° .....	5.000.000	11.000.000	12.000.000	13.000.000
70° .....	15.000.000	11.000.000	30.000.000	25.000.000
80° .....	8.000.000	20.000.000	33.000.000	67.000.000
90° .....	15.000.000	15.000.000	28.000.000	48.000.000
120° .....	12.000.000	40.000.000	36.000.000	75.000.000

Les chiffres de ce tableau nous montrent que l'action du chauffage préliminaire du lait sur *bacterium casei* est identique à celle qu'il a sur *streptococcus lactis* et qu'elle est même encore plus forte. Le point critique pour *bacterium casei* se trouve un peu plus haut que pour *streptococcus lactis*, c'est-à-dire à près de 60° C. Pour le reste, le développement du *bacterium casei* affecte le même aspect qu'avec *streptococcus lactis*, c'est-à-dire qu'avec l'élévation de la température de chauffage au-dessus du point critique, nous voyons s'accroître le nombre des microbes, qui est au maximum avec le lait stérilisé.

Si la température de l'étuve est de 40°, nous obtenons les résultats suivants, rassemblés dans le tableau III.

TABLEAU III.

La température à laquelle on maintient le lait est 40° C.

	3 h.	6 h.	9 h.	12 h.
55° .....	8.000.000	10.000.000	16.000.000	30.000.000
60° .....	9.000.000	13.000.000	29.000.000	36.000.000
65° .....	13.000.000	20.000.000	38.000.000	50.000.000
70° .....	15.000.000	26.000.000	44.000.000	60.000.000
80° .....	38.000.000	42.000.000	58.000.000	100.000.000
90° .....	41.000.000	70.000.000	81.000.000	200.000.000
120° .....	53.000.000	120.000.000	240.000.000	300.000.000

Nous constatons ici une différence très nette : c'est qu'avec la température de 40° il n'y a pas, dans la culture microbienne, les

changements que nous constatons avec celle de 30° ; le développement microbien est continu, de la température de 55° du chauffage préliminaire du lait à celle de 120° ; l'accroissement microbien s'effectue plus rapidement et il dure plus longtemps.

Nous noterons que nous n'avons point fait dans les expériences réalisées avec le *bacterium casei*, de détermination d'acidité ; nous estimons que la flore microbienne résiduelle laissée dans le lait par le chauffage préliminaire de ce liquide à certaines températures, en se développant à son tour, donne une acidité propre empêchant de fixer avec exactitude celle qui relève du *bacterium casei* lui-même.

Dans les expériences qui suivent, nous nous sommes efforcés de voir si la dépression dans le développement des microbes acido-lactiques, que nous constatons avec les basses températures, s'observe également lorsqu'on augmente la durée du passage à l'étuve. Les résultats en sont donnés dans les tableaux IV et V.

Il résulte de la lecture de ces tableaux que, lorsqu'on prolonge le séjour à l'étuve jusqu'à 72 heures, les cultures faites dans le lait ayant été pasteurisé à basse température, reprennent le dessus et leur taux microbien finit par se rapprocher de celui que l'on observe dans le lait ayant été chauffé à plus haute température. Dans la pratique de la laiterie, cette action enrayante des basses températures du chauffage préalable du lait, a une grande signification. Le ralentissement du développement de la flore acido-lactique ne peut que favoriser celui de la microflore étrangère, ce qui peut entraîner une altération des produits laitiers. Dans ces conditions, l'emploi de la culture du levain se trouverait, parfois, inutile.

Si nous résumons tout ce qui vient d'être dit dans le présent travail, nous constatons ce qui suit : les différents degrés de chauffage du lait font de celui-ci un milieu tantôt moins, tantôt plus favorable au développement des microbes acido-lactiques du type *streptococcus lactis* et *bacterium casei*. C'est ainsi que les chauffages aux basses températures : 45° à 55°, sont défavorables ; mais à partir de 55° jusqu'à 120°, ils sont, au contraire, favorables d'une façon croissante.

En utilisant ces résultats pour fixer les conditions de la pratique, nous recommanderons une pasteurisation à température élevée : 80° à 90°, pour le lait écrémé à faire les levains, pour la crème en vue de la fabrication du beurre, et pour le lait devant servir à la fabrication de produits acido-lactiques.

Quelle est donc la cause de cette action inégale des différentes températures du chauffage préliminaire du lait ? Si nous nous reportons au travail ci-dessus mentionné de ORLA-JENSEN, nous voyons que les résultats des expériences de cet auteur sont, au fond, identiques aux nôtres. Dans celles de ORLA-JENSEN, le développe-

TABLEAU IV.

La température à laquelle on maintient le lait est 30° C.

(Culture de *Streptococcus lactis*)

T.	3 h.	6 h.	9 h.	12 h.	24 h.	48 h.	72 h.
55° .....	65.000.000	180.000.000	400.000.000	450.000.000	1.000.000.000	1.600.000.000	1.650.000.000
60° .....	75.000.000	270.000.000	600.000.000	780.000.000	1.200.000.000	1.800.000.000	2.000.000.000
65° .....	110.000.000	280.000.000	690.000.000	1.000.000.000	1.300.000.000	1.850.000.000	2.000.000.000
70° .....	120.000.000	290.000.000	760.000.000	1.130.000.000	1.650.000.000	1.900.000.000	2.300.000.000
80° .....	150.000.000	340.000.000	850.000.000	1.350.000.000	1.900.000.000	2.200.000.000	2.400.000.000
90° .....	143.000.000	370.000.000	930.000.000	1.500.000.000	2.000.000.000	2.600.000.000	2.650.000.000
120° .....	143.000.000	380.000.000	1.000.000.000	1.800.000.000	2.400.000.000	2.800.000.000	2.900.000.000

TABLEAU V.

La température à laquelle on maintient le lait est 30° C.

(Culture *Bact. casei*.)

T.	3 h.	6 h.	9 h.	12 h.	24 h.	48 h.	72 h.
55° .....	15.000.000	23.000.000	30.000.000	34.000.000	62.000.000	190.000.000	390.000.000
60° .....	15.000.000	28.000.000	35.000.000	40.000.000	120.000.000	330.000.000	500.000.000
65° .....	25.000.000	30.000.000	46.000.000	56.000.000	170.000.000	420.000.000	580.000.000
70° .....	24.000.000	28.000.000	55.000.000	60.000.000	180.000.000	465.000.000	610.000.000
80° .....	30.000.000	38.000.000	65.000.000	68.000.000	270.000.000	500.000.000	670.000.000
90° .....	30.000.000	40.000.000	66.000.000	73.000.000	380.000.000	530.000.000	700.000.000
120° .....	35.000.000	43.000.000	68.000.000	76.000.000	400.000.000	650.000.000	900.000.000

ment microbien est net à partir de la température de 60°, avec quelques hésitations chez certaines espèces, comme *streptococcus lactis* et *bacterium casei*. L'auteur donne cependant une explication différente de la nôtre. Il invoque, pour expliquer ses résultats, les propriétés bactéricides du lait ; mais il nous paraît possible d'en douter.

Il est évident que si nous prenons le lait alors qu'il n'est pas encore sorti de la phase bactéricide, l'explication de ORLA-JENSEN peut paraître tout à fait normale ; on mettra au compte de la destruction progressive des propriétés bactéricides du lait, le développement microbien plus intense constaté sous l'action de l'élévation de température du lait, avant l'ensemencement.

Si cet auteur avait utilisé, comme cela a été fait dans le présent travail, des températures inférieures à 60° C., sur du lait qui a déjà traversé la phase bactéricide, sans doute aurait-il donné une autre interprétation des résultats obtenus. En effet, si nous nous reportons aux tableaux I et II, nous voyons que le lait cru, dont la phase bactéricide est terminée, devient un bon milieu de culture pour les microbes, lorsqu'on le chauffe préalablement entre 45° et 55°. Il faut élever la température du chauffage préalable du lait, pour en faire, vis-à-vis des microbes qu'on y ensemence, un milieu favorable.

En nous plaçant au point de vue de ORLA-JENSEN, l'examen de ces tableaux devrait nous faire penser à l'existence dans le lait de certaines substances bactéricides qui « s'activent » à basses températures et se détruisent à hautes températures, ce qui est peu vraisemblable. Le phénomène que nous avons étudié dans ce travail s'explique beaucoup plus simplement, en admettant que le chauffage modifie les matières alimentaires du lait dans leur pouvoir d'être attaquées plus ou moins facilement par les microbes. Nous trouvons une confirmation de cette supposition dans le travail d'un collaborateur scientifique de l'Institut de laiterie de Wologda, M. DYATSCHEKO, qui a étudié l'influence du degré de chauffage du lait sur ses propriétés colloïdales et chimiques. Dans ce travail, l'auteur montre que le chauffage jusqu'à 55-60° provoque un abaissement assez brusque de la dispersion de ce système colloïdal, en comparaison avec ce que nous donnons, d'une part le lait cru, d'autre part le lait chauffé à une température plus élevée, alors que sa viscosité s'élève à nouveau. Un phénomène pareil a été observé par RUPP et rappelé par S. B. SCHRYVER (1) : la température de 55-60° est critique par rapport à l'action de la présure sur le lait. La modification éprouvée par l'albumine pendant le chauffage doit sans doute influencer sur le développement des microbes acido-lactiques,

(1) S. B. SCHRYVER. Rapport sur les transformations chimiques subies par le lait pendant la pasteurisation. *Le Lait*, 1926, VI, 448.

ainsi qu'il résulte du travail de WOYTKEWITSCH dans le *Bulletin de la Station Bactériologique agricole*, 1916, n° 22. Quelle forme d'albumine est, pour eux, la plus assimilable ? Voilà un point qui reste encore inéclairci et on doit se borner, pour l'instant, à supposer qu'un chauffage de l'albumine à une température élevée la rend plus facilement attaquable par les microbes.

## CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA LACTATION HUMAINE

par

M<sup>me</sup> C. VINCENT

et

M. J. VIAL

Chef des travaux

Assistant

du Laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine de Lyon.

### I. DIFFICULTÉS DE LA RECHERCHE.

**1° Difficultés de prélèvement.** — a) Rien ne saurait mieux résumer ces difficultés que la phrase suivante de M. Ch. PORCHER, dont la compétence en matière de chimie du lait est incontestée :

« Lorsqu'il s'agit d'étudier les variations chimiques dans la sécrétion lactée de la femme, une difficulté se présente que nous n'avons pas jusqu'ici rencontrée : c'est l'impossibilité, dans l'espèce humaine, d'avoir un échantillon réellement moyen. »

Et il ajoute :

« L'échantillonnage est fort difficile et, conséquemment, les auteurs qui se sont occupés de la question ont opéré dans des conditions qu'il est toujours possible de discuter dès l'instant qu'on prend comme termes de comparaison, celles dans lesquelles on fait les prélèvements chez la vache. »

b) Bien qu'une foule nombreuse d'auteurs aient envisagé, soit au point de vue clinique, soit au point de vue analytique, tel ou tel élément comparé du lait, ils ne l'ont fait, en général, qu'en passant et sans chercher à élargir le champ limité et souvent occasionnel de leurs recherches.

Quelques-uns, cependant, ont voulu donner une portée plus générale à ces observations ; MM. PLAUCHU et RENDU ont fourni les moyennes journalières du taux butyreux du lait d'une nourrice observée du 15 décembre au 20 février, soit pendant plus de 2 mois.

Leurs conditions d'étude, quoique déjà sévères, se ressentaient cependant de la difficulté signalée par M. PORCHER. Mais déjà leurs travaux mettaient bien en évidence l'extrême variabilité du taux butyreux journalier chez le même sujet. Cette variabilité a été encore confirmée par les travaux de MM. DENIS et TALBOR, par