

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

BACILLUS ACIDOPHILUS ET SON UTILISATION DANS LA FABRICATION DU FROMAGE DE CHEDDAR (2)

par RENWICK H. LEITCH

Professeur de laiterie

Dairy Research Laboratories Agricultural Collège Auchincruwe (Ecosse)

VALEUR DU *B. ACIDOPHILUS* EN LACTOTHÉRAPIE

La haute valeur diététique des laits fermentés, tels le yoghourt, le koumiss, le gioddu, est due non seulement à leur valeur nutritive intrinsèque, mais aussi à l'action utile que ces préparations exercent sur la flore bactérienne du tube intestinal, action sur laquelle METCHNIKOFF a attiré notre attention il y a 25 ans. Les vertus du yoghourt furent attribuées par METCHNIKOFF à la présence prédominante d'un ferment lactique appelé le *bacille bulgare*. Les expériences de METCHNIKOFF l'ont amené à conclure que le *bacille du yoghourt* empêchait la croissance des bactéries intestinales de la putréfaction, qu'il prévenait les troubles digestifs et que, en conséquence, il aidait à prolonger la vie. Le résultat du travail de METCHNIKOFF fut de donner au lait fermenté à base de culture pure de *B. bulgaricus* une réelle vogue, pour un moment. Recommandé par les spécialistes de la diététique et les médecins praticiens, le lait « aigre » à *bacille bulgare* fut très demandé, et les consommateurs ne doutèrent pas des vertus bienfaisantes du produit qu'ils ingéraient. Au sein des pédiatres, la popularité de cette préparation commença à décroître quand des expériences concluantes eurent montré que le *bacille bulgare* ne survivait pas dans le milieu intestinal, où il ne pouvait pas cultiver. D'un autre côté, il avait été prouvé, par des essais cliniques, qu'un organisme voisin, le *bacillus acidophilus* (décrit, pour la première fois, par MORO en 1900), pouvait vivre dans l'intestin et que, ingéré en milieu convenable, il était capable de s'implanter et de cultiver dans le tube intestinal.

Des cultures en lait de ce microbe s'étaient révélées d'un grand intérêt pour soulager des troubles intestinaux qui avaient résisté au traitement médical ordinaire. La constipation est efficacement combattue par l'ingestion de lait *acidophilus* en quantité suffisante (un litre par jour), l'amélioration persistant quelque temps après la cessation du traitement. La diarrhée, du type non infectieux, est également justiciable de l'administration par voie buccale de lait *acidophilus* : la flore intestinale est modifiée, les agents de la putréfaction cédant la place à une flore acide.

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

(2) Traduction G. THIEULIN.

UTILISATION DE *B. ACIDOPHILUS* DANS LA FABRICATION DU FROMAGE

Si le lait est le milieu habituel au moyen duquel le *B. acidophilus* est introduit dans l'organisme humain, le fromage constitue également un excellent véhicule, sans doute encore plus attrayant. Nos expériences ont montré que des fromages bien faits du type Cheddar pour lesquels une culture pure de *B. acidophilus* avait été utilisée comme levain lactique, contenaient nombre de ces germes ayant conservé leur vitalité, et ceci, même après maturation complète.

C'est ainsi que nous avons trouvé dans un fromage âgé de 9 mois, environ 900.000 bacilles du type *acidophilus* par gramme de fromage, le nombre de ces germes dépassant 1.000.000 par gramme pour des fromages n'ayant que 6 mois. Du lait stérile ensemencé à l'aide d'une petite quantité d'une émulsion d'un fromage *acidophilus* coagulait invariablement en 24 heures, avec production du haut degré caractéristique d'acidité et croissance rapide de ce germe-type.

Pour la réussite industrielle du fromage *acidophilus*, il faut absolument : a) un lait pur et très propre, b) une culture pure et jeune (grande vitalité) de *B. acidophilus*, c) un contrôle technique soigneux aux différentes étapes de la fabrication.

Quand *B. acidophilus* doit être employé comme levain dans la fabrication du cheddar, une culture active est indispensable ; des souches produisant lentement de l'acidité ne sont pas utilisables, ces dernières n'ayant pas pour simple résultat un temps plus long de fabrication et la production d'un caillé défectueux, mais également un arôme moins caractéristique du fromage fini et un faible développement des germes microbiens.

Lors de nos premières expériences, *B. acidophilus* étant utilisé comme levain, en 1922, nous prenions une culture provenant de la collection nationale des cultures-standards de l'Institut Lister. Cette culture authentique, après avoir été repiquée et entretenue, journalièrement pendant quelques mois, en lait stérile de qualité adéquate, avait acquis le degré nécessaire de vitalité désirable pour les cultures de levain. Utilisée dans la fabrication du fromage, cette souche permit au processus modifié de fabrication, tel qu'il est décrit plus loin, d'être achevé dans le temps normal.

ISOLEMENT DE *B. ACIDOPHILUS*

En 1923, nous avons trouvé que d'authentiques souches actives de *B. acidophilus* pouvaient être obtenues à partir des excréments récemment évacués de jeunes veaux de lait en bonne santé. Des cultures pures des germes de cette origine ont été utilisées par nous dans la fabrication de fromages du type Cheddar, en 1925.

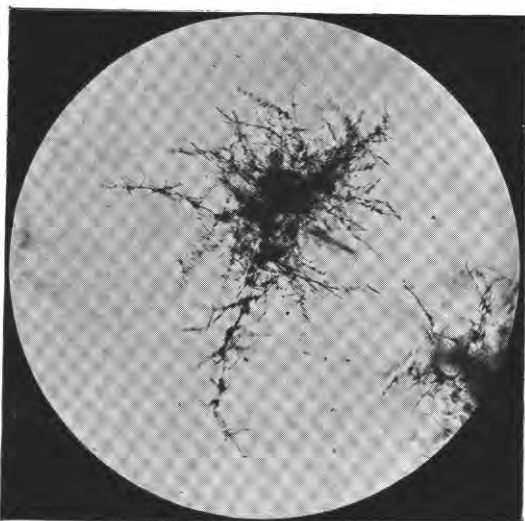


Fig. 1.

B. acidophilus : colonie profonde en « petit-lait-levure-gélose » ($G = 60$).

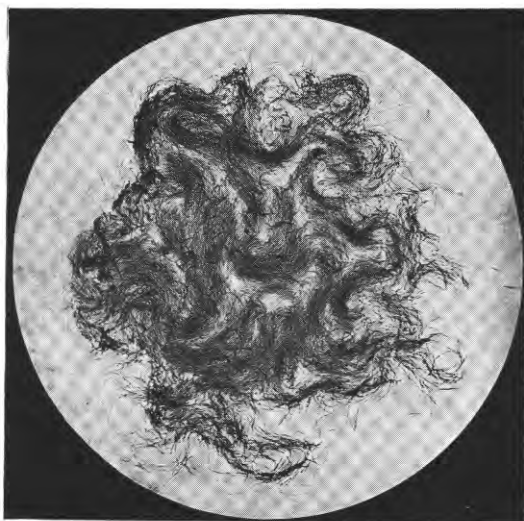


Fig. 2.

B. acidophilus : colonie en surface sur « petit-lait-levure-gélose » ($G = 40$).

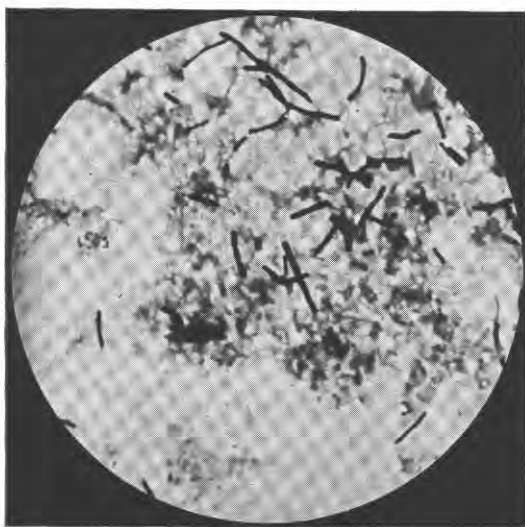


Fig. 3.

B. acidophilus : ensemencement en lait stérile à partir de fèces de veau (sept jours à l'étuve à 37° c). Coloration de Gram.

Ces souches, que nous avons isolées, correspondaient au type particulier ne produisant pas de gaz, décrit par ORCUTT, qui isola des *B. acidophilus* typiques à partir d'excréments de veaux.

S'il est possible d'isoler *B. acidophilus* par ensemencement direct de fèces de veau, on obtient de meilleurs résultats par culture préalable d'enrichissement en lait stérile.

La technique suivante nous a donné de bons résultats. A 100 cm³ de lait stérilisé, on ajoute 5 cm³ d'extrait de levure, 1 cm³ d'une culture pure de *Str. cremoris* ou de *Str. lactis*, et environ 5 gr. de fèces fraîchement évacués d'un jeune veau (âgé de moins d'une semaine). Le lait est alors mis à l'étuve à 37° C. La fermentation lactique rapidement provoquée par *Str. cremoris* permet d'arrêter la croissance des bactéries du type colibacille et de favoriser la culture des *B. acidophilus*, culture qui est d'autre part stimulée par l'extrait de levure. Après une semaine d'incubation, le lait coagulé aura développé l'arôme typique des cultures de lactobacilles et aura atteint une acidité de 1,5% ou davantage. Quand cette étape est atteinte, la partie supérieure de la culture est rejetée, et, à partir de la portion inférieure, onensemence 100 cm³ de lait stérile contenant 5 cm³ d'extrait de levures. Après 48 heures, cette seconde culture atteint

habituellement une acidité de 1,5%. Un troisième repiquage consécutif est alors fait, simplement dans du lait stérilisé. A chaque culture successive, l'acidité caractéristique est atteinte avec une rapidité croissante. Quand une ultime culture ainsi réalisée atteint une acidité de 2% en 36 à 48 heures, le développement prédominant de *B. acidophilus* aura été réalisé. Normalement, il suffit de 5 ou 6 repiquages de puis la culture originelle, à partir des excréments de veau, pour garantir un tel résultat. La culture obtenue permet alors une culture pure.

Différents milieux ont été utilisés en vue de l'isolement de *B. acidophilus* ; l'un des plus satisfaisants est celui à base de petit-lait, de levure, et de gélose (20 gr. de gélose, 10 gr. de peptone, 5 gr. de sel, 100 cm³ d'extrait de levure, 900 cm³ de petit-lait). Le milieu « caséine-gélose », additionné de 10% d'extrait de levure ou de 5% d'acide acétique (0,5 M), convient également bien pour la croissance de *B. acidophilus*. L'ensemencement sur le milieu gélosé peut être réalisé par lignes ou par stries. Les colonies en surface sur « gélose-petit-lait-levure » sont petites (0,5 mm. de diamètre) et se présentent soit régulièrement rondes soit en brousaille. Les colonies profondes ont l'aspect représenté par la microphotographie ci-jointe. (fig. 1).

Les colonies repiquées en lait stérilisé additionné d'extrait de levure sont mises à l'étuve à 37° C. La coagulation du lait prouve que la croissance est satisfaisante ; il faut, d'autre part, qu'en 36 à 48 heures se développe une acidité d'au moins 1,5%.

Des repiquages successifs permettront d'obtenir une acidité d'environ 2% en 24 heures. Quand ce degré a été atteint, la culture pure peut alors être utilisée comme levain pour la fabrication du fromage.

PROCÉDÉ INDUSTRIEL GÉNÉRAL

Si l'on veut fabriquer des fromages du type Cheddar en prenant comme levain *B. acidophilus*, il faut modifier le procédé habituel de fabrication, particulièrement en ce qui concerne le contrôle de la température et du développement de l'acidité aux différentes étapes du processus. Si la technique ordinaire est suivie dans la fabrication du Cheddar, alors que l'on utilise *B. acidophilus* comme levain, le temps nécessaire pour la fabrication est plus long que d'habitude et le fromage affiné possède une texture beaucoup trop ferme. Ces défauts peuvent être évités si l'on observe la technique précise que nous avons mise au point à la suite d'un grand nombre d'expériences et telle que nous la relatons ci-dessous.

Traitement du lait du soir. — Le lait du soir, produit dans des conditions hygiéniques satisfaisantes, est rafraîchi dans la cuve à fromage (jusqu'à une température de 23° C.), et l'on ajoute

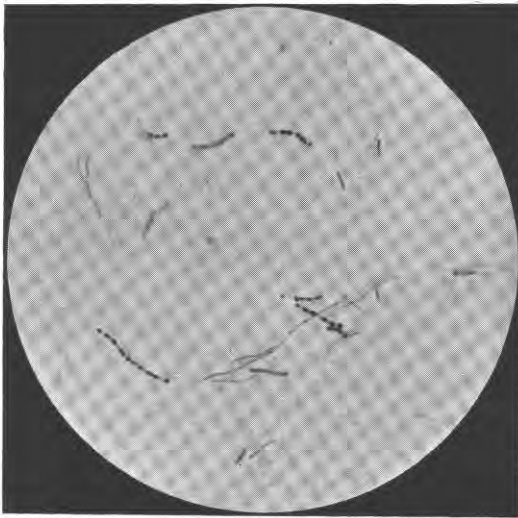


Fig. 4.

B. acidophilus : culture en lait stérile à partir d'excréments de veau nouveau né (cinq jours à l'étuve).

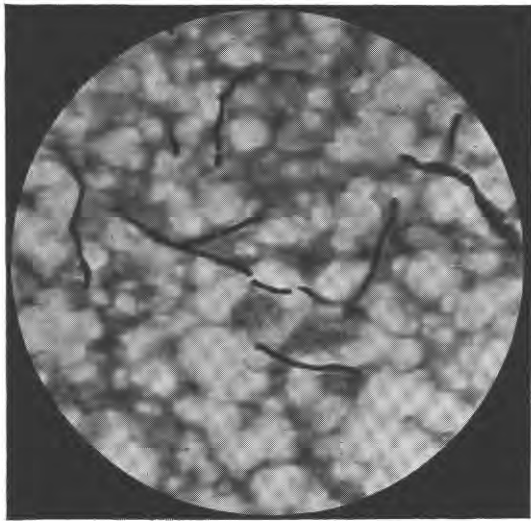


Fig. 5.

B. acidophilus : coupe obtenue dans un fromage fait de lait pasteurisé.

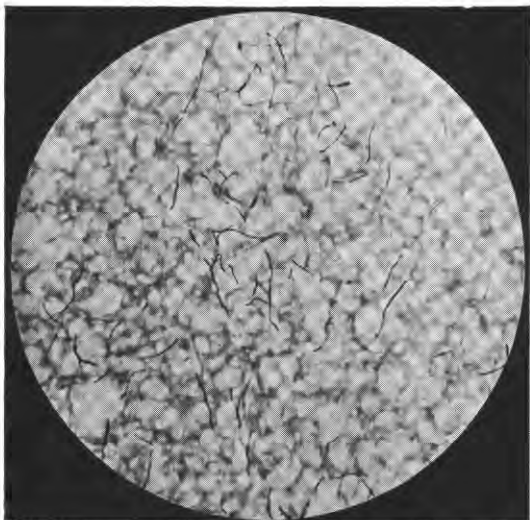


Fig. 6.

B. acidophilus : coupe obtenue dans un fromage acidophilus.

une goutte de levain (*B. acidophilus*) par 5 litres de lait. Le lait du soir étant maintenu pendant la nuit à une température propice pour le développement des bactéries de contamination, on se rend compte de l'intérêt qu'il y a à pouvoir garantir la grande propreté de ce lait du soir, en particulier, et celle des ustensiles utilisés. D'une manière générale, le lait frais ne devra pas contenir, au départ, plus de quelques milliers de bactéries par centimètre cube. Il est indiqué de prendre l'acidité de ce lait du soir, et, si on le désire, d'effectuer une lecture de pH . L'acidité moyenne du lait frais normal, en Ecosse (S. W.), est de 0,17% et le pH , d'environ 6,68.

Au matin, avant d'ajouter le lait frais, l'acidité du lait de la veille est prise à nouveau, afin de s'assurer de la marche de l'acidité pendant la nuit. Si le lait a été bien traité, l'augmentation d'acidité ne dépasse pas en général 0,01%. Au matin, l'acidité titrable du lait de la veille doit être approximativement 0,18%, son pH correspondant, 6,68, sa température ne dépassant pas 18° C.

Maturation du lait de mélange. — Le levain (culture de *B. acidophilus*, âgée de 12 à 16 heures) est maintenant ajouté à la dose de 1,5% de la quantité totale du lait utilisé et convenablement réparti dans la masse par agitation. Le lait frais du matin est alors introduit dans la cuve à fromage et la température du lait de

mélange atteint immédiatement 39° C. Une période de 30 à 45 minutes est laissée au lait pour sa maturation à cette température. Puis la masse est refroidie à 30° C. par circulation d'eau froide dans la double paroi de la cuve, le lait étant agité continuellement. Le temps mis pour refroidir le lait ne doit pas excéder 30 minutes. A ce stade, l'acidité titrable est d'environ 0,21% et le pH, 6,55.

Emprésurage. — La présure est ajoutée au lait à la température de 30° C. et dans la proportion de 1 pour 3.500. Si le lait était emprésuré à la température de maturation de 39° C., le fromage fini aurait, ainsi que nos expériences nous l'ont démontré, une texture beaucoup trop serrée. La période de coagulation est normalement de 40 minutes : le coagulum est d'une bonne consistance et peut facilement être tranché à l'aide des couteaux américains à fromage.

Division du caillé. — Le caillé est découpé en long et en travers, d'abord à l'aide du couteau vertical, puis à l'aide du couteau horizontal, en cubes de 0 cm. 5 de côté. Dès que le découpage est achevé, on prend l'acidité du petit-lait : elle est normalement de 0,14%. Mesuré au potentiomètre, le pH du petit-lait issu du caillé tout fraîchement découpé est approximativement 6,55.

Chauffage du caillé. — Les parcelles de caillé tendre ayant été doucement brassées dans le petit-lait pendant 10 minutes, la température est progressivement amenée à 40° C. (un degré toutes les 5 minutes, l'opération demandant de cette façon 50 minutes). Il est essentiel d'agiter continuellement les particules de caillé durant le chauffage et même encore pendant 15 à 20 minutes après que la température maximum (40° C.) a été atteinte. Le caillé doit avoir acquis le degré nécessaire de fermeté avant qu'il soit laissé au repos dans le petit-lait. L'acidité du petit-lait quand le caillé est au repos est de 0,155 à 0,16%, et le pH, d'environ 6,45.

Séparation du petit-lait. — Quand l'intérieur du caillé a atteint le degré voulu d'acidité, — ce qui demande généralement de 30 à 40 minutes, — on procède à la séparation du petit-lait. Il est important, d'un point de vue technique, que l'acidité, durant cette période, se développe graduellement et que l'acidité du petit-lait exprimé du caillé ne dépasse pas 0,18 à 0,19%. C'est là une des lectures critiques d'acidité au cours du processus. Avant d'évacuer le petit-lait, le caillé déposé au fond de la cuve est refoulé, afin de l'éloigner du robinet, et la passoire est placée devant l'orifice intérieur de celui-ci. Le pH du petit-lait atteint à ce stade 6,30.

« Cheddarisation » du caillé. — Le petit-lait ayant été complètement évacué, un chenal est établi au milieu de la masse du caillé, afin d'en permettre le drainage. Les portions de caillé

qui ont été ainsi enlevées sont fragmentées et épandues également sur les deux tas de caillé situés de chaque côté. A ce moment, l'odeur particulière de la fermentation provoquée par *B. acidophilus* est nettement évidente dans le caillé.

Quand les fragments libres du caillé (en surface) font partie de la masse (environ 20 à 30 minutes après l'évacuation du petit-lait), le caillé, bien soudé, est découpé en blocs qui sont retournés sur le fond de la cuve. Afin de prévenir une chute de la température du caillé, un peu d'eau chaude à 50° C. est envoyée dans la double paroi de la cuve. Après un intervalle de 15 minutes, les blocs de caillé sont superposés, sur deux couches, sur un chevalet en bois recouvert d'une toile blanche, disposé au fond de la cuve. Les blocs sont pressés légèrement, à l'aide de poids, pour faciliter le tassement en même temps que l'expulsion du petit-lait. Les blocs soudés sont séparés, arrangés de nouveau, de 20 minutes en 20 minutes, jusqu'à ce que le degré d'acidité désiré soit obtenu et que soit acquise la structure foliée voulue. Si, à quelque moment, la température du caillé tombe au point de suspendre le développement progressif de l'acidité, on pourra réchauffer les blocs de caillé en les plaçant directement sur le fond de la cuve (celui-ci étant chauffé par introduction d'eau à 55° C. dans la double paroi) ou bien en faisant arriver l'eau chaude en dessous du chevalet sur lequel ils sont placés.

Pré-refroidissement du caillé « cheddarisé ». — Généralement, les blocs de caillé sont tournés et réarrangés trois fois. Après le troisième retournement ($pH = 5,9$), le caillé, chaud, est découpé en bandes, que l'on étale sur le " cooler " (un grand plateau disposé sur des supports), pour abaisser la température précédente à celle du broyage. Si le caillé n'est pas refroidi de cette manière, il sera trop mou pour le broyage, et la conséquence sera une perte de matière grasse (le petit-lait s'écoulant de la presse apparaîtra blanc).

Broyage du caillé. — Le caillé doit être broyé quand le fer chaud permet d'obtenir des filaments fins, d'une longueur de 2,0 à 2,5 cm., et lorsque l'acidité est de 0,37%. La température du caillé au broyage ne doit pas dépasser 27 à 28° C. A ce stade, la lecture du pH doit donner approximativement 5,70.

Salage du caillé. — Le caillé, broyé et pesé, est brassé dans le « cooler », afin que sa température tombe à 25-26° C. On ajoute alors du sel, à la proportion de 1 pour 50. Après 15 à 20 minutes, le caillé est empaqueté dans son moule, lequel est doublé d'une toile propre.

Mise en moule. — Afin que les particules du caillé se soudent complètement sous la pression et qu'aucun creux ne subsiste dans le fromage, la mise en moule du caillé devra être effectuée avec

beaucoup de soins. Il convient que l'acidité du petit-lait s'écoulant de la presse ne dépasse pas 0,5% (le pH étant approximativement de 5,60). Une acidité du petit-lait excédant 0,60 est trop élevée pour obtenir dans le fromage en fin de maturation une compacité et une texture convenables.

Pressage du caillé. — Le fromage est pressé selon la technique utilisée pour le cheddar ordinaire, à l'aide d'une presse mixte à vis et à levier. Le caillé ayant été tassé dans son moule, les extrémités de la toile qui l'enveloppe sont ramenées sur la face supérieure du fromage, le couvercle est placé et le moule, ainsi rempli et recouvert, est porté sous la presse. Il faudra exercer une pression progressive et continue. D'abord, la pression va être exercée à l'aide de la vis seulement (pression correspondant à 250 kilogrammes). Après 15 minutes, des poids sont peu à peu accrochés au bras de levier, toutes les demi-heures, jusqu'à ce que la pression atteigne 1.000 kilogrammes. Le fromage subit cette pression pendant 3 à 4 heures, puis il est sorti de son moule, retourné, et remis sous presse (où il restera toute la nuit, en subissant une pression de 1.250 kilos). Le lendemain matin, le fromage est de nouveau sorti de sous la presse et immergé pendant quelques secondes dans l'eau chaude à 60° C., dans le but de durcir et d'épaissir la croûte. Le fromage est retourné dans le moule dans la même toile et il est laissé de côté pendant deux heures, pour lui permettre de se refroidir. Le tissu humide qui l'enveloppe est alors enlevé et remplacé par une toile grossière bien sèche, et le fromage, replacé sous la presse, subit une pression de 1.250 kilogrammes. Dans le courant de la soirée, la toile précédente est remplacée par une toile fine et douce, puis le fromage va subir la pression maximum (1.500 kilos). Le troisième jour, la surface entière du fromage est frottée avec du saindoux. Une toile à pourtour circulaire étant disposée aux deux extrémités du fromage, celui-ci est mis encore sous presse, enveloppé d'une fine toile mousseline. Finalement, le quatrième jour, le fromage est bandé et ensuite emmené dans la salle de maturation.

Affinage. — Le fromage doit être affiné à une température comprise entre 10 et 13° C. Il devra être retourné quotidiennement dans la salle d'affinage, au cours de la période de maturation. Nous ne recommandons pas le paraffinage de la surface au début de la période de maturation, ainsi qu'il est pratiqué en Amérique et en Nouvelle-Zélande. Les fromages faits à l'aide de cultures de *B. acidophilus* ont une maturation quelque peu plus lente que ceux fabriqués au moyen des levains commerciaux. Ce n'est qu'au bout de trois à quatre mois que l'arôme caractéristique commence à apparaître, en même temps que se dessine la texture désirée. Après

une maturation de cinq à six mois, le délicat et riche arôme particulier ainsi que la texture plastique sont à point. L'arôme est différent de celui du cheddar ordinaire, étant, à la gustation, plus doux et d'un goût de noix plus accentué. La plupart des consommateurs ainsi que de nombreux juges experts considèrent que cet arôme est supérieur à celui du cheddar ordinaire.

FABRICATION DU FROMAGE ACIDOPHILUS A PARTIR DE LAIT PASTEURISÉ. — Si le lait cru de bonne qualité donne un type satisfaisant de fromage, le même lait pasteurisé par chauffage correct à une température convenable, permet un résultat encore meilleur et plus certain : le fromage conservera un arôme caractéristique fin, même après une longue conservation. Dans nos expériences, où nous utilisons *B. acidophilus* comme levain, nous avons constaté que la pasteurisation, à une température ne dépassant pas 61° C. (la durée du maintien de cette température étant de 30 minutes), du lait devant servir à la fabrication, donnait les meilleurs résultats. Après avoir été chauffé, le lait est refroidi à 39° C. et l'on ajoute le levain à la dose de 1,5%. Une période de maturation de trente minutes à cette température est généralement convenable. Le lait est ensuite refroidi à 30° C. pendant au moins 20 minutes. Puis, font suite les diverses et successives opérations déjà décrites.

ACIDITÉ TITRABLE ET *p*H OBSERVÉS PENDANT LA FABRICATION

	Lait cru		Lait pasteurisé	
	Acidité titrable	<i>p</i> H	Acidité titrable	<i>p</i> H
Lait du soir	0,18	6,68	0,18 (lait cru)	6,68
Lait du matin	0,19	6,60	0,19 (lait cru)	6,60
Lait de mélange	0,195	6,59	0,18	6,50
Emprésurage	0,21	6,55	0,21	6,52
Petit-lait (division du caillé).....	0,14	6,57	0,145	6,55
Petit-lait (repos du caillé)	0,15	6,45	1,165	6,37
Séparation du petit-lait	0,18	6,30	0,19	6,23
« Cheddarisation » :				
1 ^{er} retournement	0,21	6,20	0,23	6,11
2 ^e retournement.....	0,26	6,02	0,27	5,95
3 ^e retournement.....	0,31	5,89	0,33	5,80
Broyage	0,37	5,70	0,44	5,65
Salage	0,44	5,65	0,46	5,58
Pressage	0,47	5,54	0,49	5,47

Temps nécessaire au processus de fabrication. — De façon

à pouvoir garantir la texture voulue dans le fromage fini, il est capital que l'acidité se développe progressivement, et que les taux-limites précis indiqués pour chaque stade ne soient pas dépassés. Le temps nécessaire sera tel qu'il devra permettre une acidité de 0,5% à la mise en moule s'il s'agit d'un fromage *acidophilus*, acidité qui devrait atteindre 0,9% pour un caillé de cheddar ordinaire lors de la mise sous presse. Si le lait est un lait anormal (par exemple, si l'une des vaches productrices est atteinte de mammite), le développement de l'acidité peut être arrêté à un degré plus avancé avec l'emploi de *B. acidophilus* comme levain qu'avec celui d'un levain commercial habituel (*Str. cremoris* et *Str. lactis*).

QUELQUES DONNÉES SUR LA TENEUR DU SANG DES VACHES LAITIÈRES EN CHOLESTÉROL ET EN PHOSPHATIDES

par

A. DOULKIN et S. HELMAN

(Institut de Laiterie de Molochnaïa, près de Vologda, U. R. S. S.)

Le rôle des lipoides en physiologie et en pathologie a été l'objet de nombreuses investigations expérimentales. Sans vouloir donner une revue complète de tous les travaux (nous renvoyons les lecteurs à la revue de SMORODINZEFF (1929), qui contient le résumé des 260 travaux), nous nous permettons de fixer quelques points.

Le rôle du cholestérol dans le métabolisme doit être immense, car nous le trouvons dans chaque cellule. Un homme reçoit journellement dans sa ration de 0,039 à 1,406 gr. de cholestérol. Néanmoins nous devons conclure, que l'organisme peut synthétiser le cholestérol, car dans l'œil extirpé (lapin, bœuf), le maximum de sa teneur en cholestérol n'est atteint que six heures environ après l'extirpation. Chez les omnivores, la teneur du sang en cholestérol démontre une faible augmentation dans les quelques heures qui suivent l'ingestion de cholestérol avec la ration. Chez les herbivores, cela ne se produit qu'après deux ou trois jours. Pendant un jeûne prolongé, quand l'organisme perd un tiers de son poids et presque toute sa graisse, sa teneur en cholestérol ne tombe pas au-dessous d'un certain minimum. C'est seulement vers la mort qu'on observe une chute brusque.

Comme l'a démontré R. BRINKMAN (1920), c'est le rapport qui existe entre la teneur en cholestérol et celle des phosphatides qui contrôle la teneur de la cellule en eau. RUBNER, d'autre part, a démontré, dans ses expériences, que c'est le métabolisme de l'eau, pendant la période de croissance, qui a un rôle éminent. Des expé-