



LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :

A. CAMUS, P. LANIESSE et J. BURDIN. — La formation du diacétyle dans les levains de beurrerie	225
M. LONCIN et D. JACQMAIN. — Contribution à l'étude de la lipase du lait	233
Lucie RANDOIN et Colette JOURDAN-VATINEL. — Détermination des teneurs en matière sèche, en calcium et en phosphore de diverses variétés de fromages à pâte ferme ou demi-dure et à croûte résistante	250

REVUE :

G. GÉNIN. — L'Industrie laitière dans le monde.	257
---	-----

Bibliographie analytique :

1 ^o Les livres	268
2 ^o Journaux, Revues, Sociétés savantes	275

3 ^o Brevets	317
----------------------------------	-----

Bulletin bibliographique :

1 ^o Les livres	322
2 ^o Journaux, Revues, Sociétés savantes	323
3 ^o Brevets	327

XII^e CONGRÈS INTERNATIONAL DE LAITERIE (Stockholm), 1949 :

S. VALLIN. — Système de filtration des eaux résiduaires des laiteries	329
---	-----

Documents et informations :

M. BEAU. — La situation laitière	338
G. THIEULIN. — Le Lait et l'Industrie laitière aux Etats-Unis (relation de voyage)	341
La laiterie mondiale	350
L'Industrie laitière indienne	350
Ecole de Laiterie de Nancy.	352

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

LA FORMATION DU DIACÉTYLE DANS LES LEVAINS DE BEURRERIE

A. CAMUS, P. LANIESSE et J. BURDIN

(Station Centrale de Technologie agricole)

La constatation de variations assez importantes de l'arome du beurre fabriqué à partir de crèmesensemencées avec une souche de ferment isolée par la méthode de culture sur lait dilué [1], nous a conduits à étudier d'une façon systématique le comportement de cette espèce dans des conditions de culture différentes.

Il s'agit d'un ferment qui présente tous les caractères de l'espèce *Streptococcus lactis* selon BERGEY [2].

Cette espèce nous ayant souvent donné d'excellents résultats

(1) Reproduction interdite sans indication de source,

dans son utilisation industrielle, soit seule, soit en mélange avec des espèces acidifiantes, nous avons cherché à établir :

1° Les quantités de diacétyl, d'acétoïne et de 2-3 butanediol produites en fonction du temps ;

2° L'influence de la température d'incubation ;

3° L'influence de la dilution du laitensemencé ;

4° L'influence de la dose d'ensemencement ;

5° L'action d'un arrêt par le froid du développement du ferment au cours de la culture ;

6° Le comportement des cultures associées de ferments acidifiants et du ferment d'arome.

Nous avons tiré des résultats obtenus une application pratique qui s'est révélée très utile.

Méthodes employées

Culture. L'expérience nous ayant montré la rapidité de l'évolution des phénomènes étudiés, il importait de faire des prélèvements fréquents. Pour en éviter les difficultés et pour supprimer toute cause de contamination à cette occasion, nous avons préféré cultiver le ferment en flacons séparés renfermant la quantité de lait nécessaire pour le dosage du diacétyl, de l'acétoïne, du 2-3 butylène-glycol et pour la détermination de l'acidité et du *pH*.

Mais l'obtention d'une croissance comparable exige que l'ensemencement soit fait dans les mêmes conditions pour chaque flacon : égalité de température et des doses d'ensemencement. La régularité de la courbe d'acidification permet de contrôler l'homogénéité du développement microbien.

Dosage. Les premiers dosages ont été effectués selon la méthode de PRILL et HAMMER [3] par entraînement du diacétyl à la vapeur et dosage colorimétrique de ce dernier à l'état de diméthylglyoxime ferreuse.

Nous avons ensuite adopté l'entraînement direct par ébullition selon HOOREMAN [4] en conservant la méthode colorimétrique de PRILL et HAMMER. L'acétoïne et le 2-3 butanediol ont été dosés à l'état de diméthylglyoxime ferreuse à partir du diacétyl obtenu par oxydation au moyen du perchlorure de fer d'une part, du brome et du perchlorure de fer d'autre part, en suivant exactement les prescriptions de HOOREMAN (*loc. cit.*).

Résultats

1° **Quantités de diacétyl, d'acétoïne et de 2-3 butanediol présentes dans la culture en fonction du temps.**

Le graphique I (courbe a) représente l'évolution du taux de

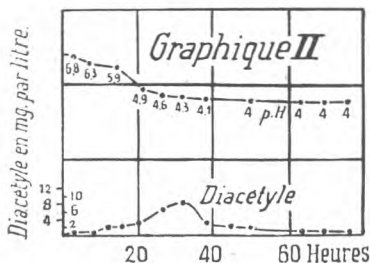
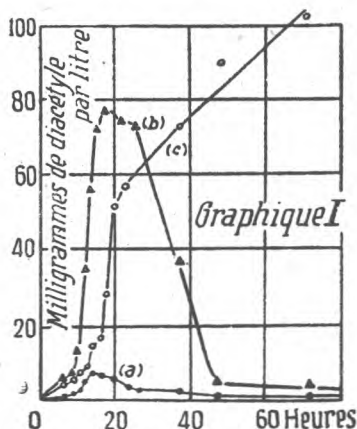
diacétyle dans une culture sur lait écrémé dilué de son volume d'eau, effectuée à 25° pour une dose d'ensemencement de 1%. Il montre que ce taux passe par un maximum généralement atteint après seize à dix-huit heures. Après vingt-cinq heures environ le diacétyle a pratiquement disparu.

Pour expliquer cette disparition nous avons été amenés à doser l'acétoïne et le 2-3 butanediol. Le taux d'acétoïne (courbe b) présente aussi un maximum, se produisant presque en même temps que le maximum de diacétyle; il décroît ensuite très rapidement pour devenir pratiquement nul après cinquante heures.

Culture d'un ferment d'arôme en lait écrémé dilué de son volume d'eau.

(Température de culture : 25°; Dose d'ensemencement : 1 %)

- (a) Diacétyle.
- (b) Acétoïne exprimée en diacétyle.
- (c) 2-3 butanediol exprimé en diacétyle.



Culture de ferment d'arôme en lait écrémé dilué de son volume d'eau.

(Température de culture : 17°; Dose d'ensemencement : 1 %)

La courbe supérieure indique l'évolution du pH pendant la culture.

Parallèlement il est possible de constater une augmentation continue de la quantité de 2-3 butanediol produite (courbe c).

2° Influence de la température d'incubation.

Le phénomène est le même quand la culture est faite à une température inférieure à 25° C. Le graphique II montre qu'à 17° C.

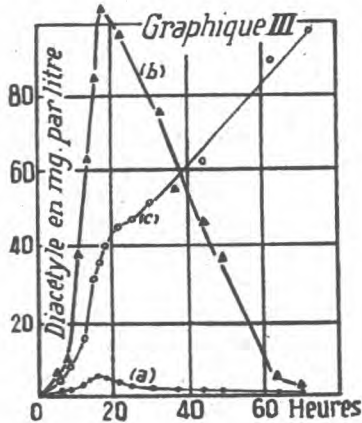
la quantité de diacétyle formée est à peu près la même (7 mgr.). Ce maximum est atteint après un délai plus long (30 heures), ce qui est normal. Par contre la courbe est plus aplatie. La disparition du diacétyle se produit plus lentement. Elle est pratiquement obtenue après quarante-cinq heures, mais n'est totale qu'après soixante heures.

3° Influence de la dilution du lait ensemençé.

Les courbes obtenues avec des cultures sur lait écrémé non dilué ont la même allure. Il semble cependant que le taux maximum de diacétyle soit plus faible (graphique III) que dans le cas du lait écrémé dilué.

Il en est de même pour les cultures sur lait écrémé dilué de quatre fois son volume d'eau. Les quantités de diacétyle et d'acétoïne produites sont également plus faibles que pour le lait dilué de son volume d'eau (graphique IV), mais il semble difficile d'établir une relation entre ces quantités et la dilution. Cependant, les conditions les plus favorables paraissent être réalisées pour le lait additionné de son volume d'eau.

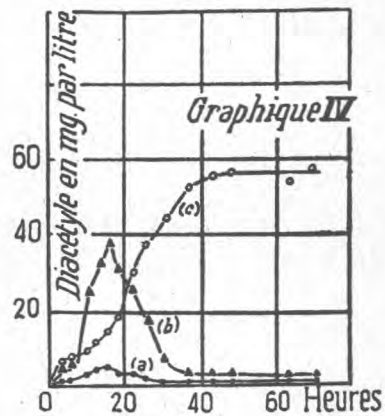
Dans tous les cas, la production maxima se situe au même moment.



Culture de ferment d'arôme en lait écrémé non dilué.

(Température de culture : 25°; Dose d'ensemencement : 1 %)

- (a) Diacétyle.
- (b) Acétoïne, exprimée en diacétyle.
- (c) 2-3 butanediol exprimé en diacétyle.



Culture de ferment d'arôme en lait dilué de quatre fois son volume d'eau

(Température de culture : 25°; Dose d'ensemencement : 1 %)

- (a) Diacétyle.
- (b) Acétoïne, exprimée en diacétyle.
- (c) 2-3 butanediol, exprimé en diacétyle.

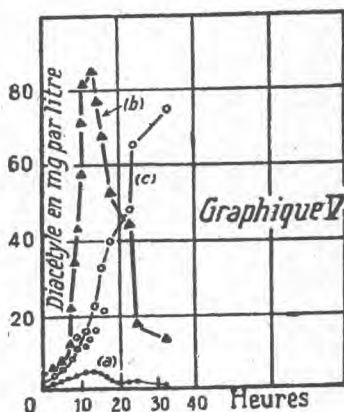
4° Influence de la dose d'ensemencement.

Lorsque la dose d'ensemencement varie, la seule modification est une accélération ou un retard du phénomène. La comparaison entre le graphique V (ensemencement 5%) et le graphique I (ensemencement 1%) montre en effet que, pour un ensemencement cinq fois plus abondant, le maximum de production des produits aromatiques

Culture de ferment d'arôme en lait écrémé dilué de son volume d'eau.

(Température de culture : 25° ; Dose d'ensemencement : 5 %)

- (a) Diacétyle.
- (b) Acétoïne, exprimée en diacétyle.
- (c) 2-3 butanediol exprimé en diacétyle.



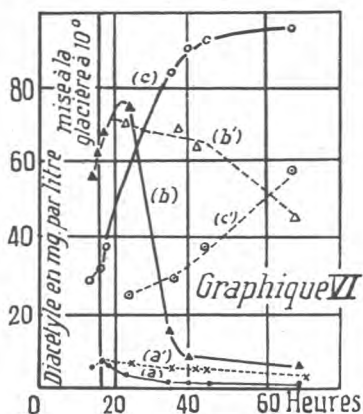
a lieu à peu près quatre heures plus tôt, mais que leur disparition est également plus rapide : après dix-huit heures il n'y a pratiquement plus de diacétyle ni d'acétoïne dans la culture.

5° Influence du froid sur une culture en pleine évolution.

La disparition plus lente du diacétyle dans une culture faite à température plus basse (17° C.) nous a incités à rechercher l'influence d'un arrêt de l'action microbienne par le froid.

Dans ce but, des flacons de lait dilué de son volume d'eau ont été ensemencés simultanément et placés à l'étuve à 25° jusqu'à ce que la quantité de diacétyle approche de son maximum. Une moitié des flacons a été placée alors à la glacière à 10°, l'autre moitié maintenue à 25°. Les dosages ont été poursuivis sur l'une et l'autre des deux séries.

Il est possible de constater l'action retardatrice du froid dans la réduction du diacétyle et de l'acétoïne par l'examen du graphique VI : après quarante heures il reste encore 60% environ du diacétyle présent au moment de la mise à la glacière et près de 85% de l'acétoïne ; après soixante heures on retrouve 30% de diacétyle et 75% de l'acétoïne ; le taux de 2-3butanediol n'a monté que dans de faibles proportions.



Influence du froid sur la destruction du diacétyle et de l'acétoïne dans une culture de ferments d'arôme.

- (a) Diacétyle dans la culture à 25°.
- (b) Acétoïne dans la culture à 25°.
- (c) 2-3 butanediol dans la culture à 25°.
- (a') Diacétyle dans la culture faite à 25° puis placée à 10°
- (b') Acétoïne dans la culture faite à 25° puis placée à 10°.
- (c') 2-3 butanediol dans la culture faite à 25° puis placée à 10°.

6° Le comportement des cultures associées.

Dans l'hypothèse d'une réduction du diacétyle et de l'acétoïne, nous avons effectué des essais de culture de la souche aromatique en mélange avec une souche de streptocoque lactique acidifiant. Deux variétés présentant des facultés de production de diacétyle et d'acétoïne différentes ont été utilisées.

Dans les deux cas, pour des doses d'ensemencement égales de chacun des constituants de la culture mixte, les courbes obtenues sont à peu près les mêmes que celles de la culture pure de l'espèce acidifiante. Les graphiques VII et VIII se rapportent à une variété donnant pendant très longtemps une petite quantité des deux produits. L'autre variété dont la production en diacétyle et acétoïne est pratiquement nulle a donné une culture-mélange dans laquelle ces produits ne sont jamais apparus d'une façon sensible.

Discussion et conclusions pratiques

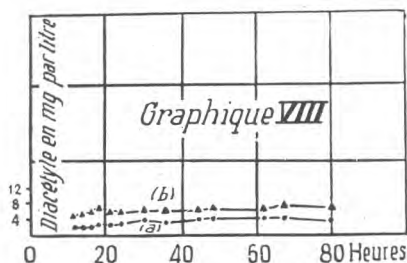
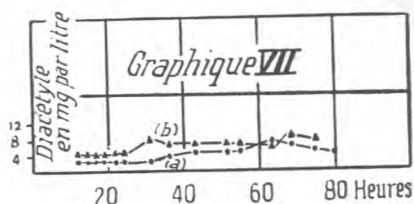
Comme le rappelle PIEN [5], de nombreux auteurs ont déjà signalé la réduction du diacétyle et de l'acétoïne dans les cultures de ferments d'arôme (HAMMER, MICHAELIAN et COLL, STAHLY, SLATTER, VAN BEYNUM). Les résultats que nous avons obtenus confirment cette constatation. Les dosages effectués à intervalles rapprochés mettent simplement en évidence la rapidité du phénomène.

Nous insisterons seulement sur le fait que la souche a été isolée en 1939 et que les résultats des dosages, répétés régulièrement depuis 1944, ont toujours, jusqu'à maintenant (février 1951), conduit à des courbes analogues, presque superposables.

Il est alors possible de trouver dans la disparition rapide du

Production de diacétyle et d'acétoïne par une souche de ferment lactique acidifiante.

- (a) Diacétyle.
(b) Acétoïne.



Production de diacétyle et d'acétoïne dans la culture associée de ferment d'arôme et de la souche de ferment lactique étudiée au graphique VII.

- (a) Diacétyle.
(b) Acétoïne.

diacétyle l'explication du phénomène signalé par divers auteurs (Cf., en particulier LEMOIGNE, SANCHEZ et MILLET [6]) par lequel certaines souches de ferments lactiques se révèlent incapables de produire du diacétyle après un certain nombre de repiquages. Dans une même culture, en quelques heures, la quantité de diacétyle peut passer de 0 à quelques milligrammes, puis s'annuler et, si l'on ne suit pas heure par heure cette évolution, on court le risque de faire le dosage après la disparition.

Un repiquage quotidien des souches, effectué avant qu'elles ne soient entrées dans leur phase de souffrance, nous a permis de les maintenir en bon état et de conserver leurs qualités au cours des années.

Confirmant le propos de PIEN (*loc. cit.*) les essais décrits montrent nettement l'importance du choix de l'espèce acidifiante associée à l'espèce aromatique. On peut même se demander quelle est son utilité lorsque la souche productrice d'arôme, comme c'est le cas pour l'espèce décrite, suffit elle-même à abaisser le pH de la culture ou de la crème au niveau favorable, d'une part à la production du diacétyle, d'autre part à la conduite normale du barattage.

Il est intéressant d'exploiter l'influence de la température ; son abaissement ralentit la réduction des produits aromatiques. Le fait a déjà été signalé par PIEN. Cette influence est utilisée empiriquement dans la maturation spontanée des crèmes richement ensem-

cées, normalement conduite entre 15 et 17° ou même à des températures plus basses (12°).

Il peut en être ainsi dans la maturation des crèmes pasteurisées etensemencées ; la dose de levain introduite permet de modifier la durée de l'opération et d'obtenir l'arome maximum au moment voulu.

Un autre procédé nous a donné industriellement de très bons résultats. L'incubation des levains et la maturation des crèmes se font à température plus élevée (20 à 25° pour les levains, 18 à 20° pour les crèmes). Quand le diacétyle et l'acétoïne ont atteint leur taux maximum (l'expérience ou le dosage, pour un ensemencement donné, permettent d'en déterminer le moment) on retarde leur disparition en refroidissant à 10° le levain ou la crème. On peut ainsi incorporer dans une crème un levain très aromatique à n'importe quelle heure de la journée. La maturation de la crème peut se conduire à un rythme plus rapide ; l'action du froid, permettant d'effectuer le barattage sans perte d'arome à un moment quelconque, assure une souplesse plus grande dans l'organisation du travail de l'usine.

Il est même possible d'obtenir des beurres aromatiques par l'ensemencement de la crème une heure ou deux avant le barattage avec des doses massives de levain (10%) préparé comme il vient d'être dit. Il suffit d'opérer ces maturations accélérées sur des crèmes riches pour éviter les effets de la dilution par les levains.

Conclusion

L'apparition de diacétyle et d'acétoïne, considérés comme les produits les plus importants de l'arome du beurre, est un phénomène extrêmement fugace encore mal exploité. Il faut probablement rechercher dans ce fait l'explication de nombreux échecs enregistrés à ce sujet dans la préparation des levains et dans la maturation des crèmes. Les efforts des laboratoires et de l'industrie doivent porter sur la manière de saisir le moment favorable et sur les moyens de conserver l'arôme.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] J. KEILLING et A. CAMUS, *Comptes rendus de l'Académie d'Agriculture de France*, 26 mars 1947 et *Le Lait*, n° 265-266, mai-juin 1947.
- [2] BERGEY, *Manual of determinative bacteriology*.
- [3] PRILL et HAMMER, *Journal of Iowa Agricultural Experiment Station*, mars 1938.
- [4] HOOREMAN, Contribution à l'étude de la fermentation butanediolique. *Thèse de doctorat*, Paris, 1948.

- [5] PIEN. Production biologique des substances concourant à la formation de l'arôme du beurre. *Le Lait*, juillet-août 1948.
- [6] LEMOIGNE, SANCHEZ et MILLET. Recherche sur l'arôme des beurres. *Comptes rendus de l'Académie d'Agriculture de France*, 15 mars 1950.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA LIPASE DU LAIT

par

M. LONCIN et D. JACQMAIN

Chaire de Laiterie, Matières grasses et Conserves à l'Institut National des Industries de Fermentation

Il est remarquable de constater que n'importe quelle cellule vivante possède toujours en elle tous les éléments nécessaires à sa disparition. Ces éléments portent le nom de diastases lytiques et accomplissent normalement le travail de catabolisme de la cellule.

Pour que la vie soit possible, il faut un équilibre constant entre le catabolisme (ensemble des phénomènes de destruction) et l'anabolisme (ensemble des phénomènes de synthèse). Cet équilibre est appelé métabolisme.

Une rupture de cet équilibre se manifeste par la prédominance de l'activité des diastases lytiques et se termine par la mort de la cellule.

Cette rupture d'équilibre peut avoir deux origines différentes : l'une, naturelle, survient sans raison exactement connue, c'est la mort naturelle ; l'autre est artificielle et de source déterminée, par exemple en blessant la cellule et en mettant de ce fait les enzymes lytiques en présence de leurs substrats. On sait d'ailleurs que lorsqu'on blesse une matière vivante (un fruit par exemple), son coefficient respiratoire augmente et qu'il en est de même lors de la mort naturelle.

La diastase lytique qui nous intéresse dans ce travail est la lipase.

On la classe dans les hydrolases parmi celles qui sont appelées estérases. Elle effectue l'hydrolyse des lipides en acides gras libres et en glycérol. On constate par exemple, que les fruits de palme qui sont blessés donnent une huile dont le pourcentage en acides gras libres est beaucoup plus élevé que celle fournie par les fruits intacts ; c'est la lipase du fruit de palme qui en est responsable.

Dans la plupart des cas, pour étudier la lipase d'un organisme quelconque, il est nécessaire de toucher à l'intégrité de la cellule ce qui déclenche immédiatement la lipolyse.

Il y a cependant des substances de structure non cellulaire,