

nales. Dégénérescence du thymus et du corps thyroïde. Reins normaux quand la mort est précoce, mais seulement dans ce cas.

La pathogénie en est mal connue. Il ne s'agit pas d'avitaminose, car la cuisson diminue ce pouvoir toxique du soja.

Comme la cystine et la méthionine améliorent l'état du rat nourri au soja cru, il est probable que, dans ce cas, il s'agit d'un trouble dans le métabolisme et dans l'équilibre des acides aminés.

LE TEST DE LA PHOSPHATASE APPLIQUÉ A LA RECHERCHE DE LA PASTEURISATION DES LAITS DE FROMAGERIE

par

A. CAMUS et R. ALIFAX

Station centrale de Technologie agricole

Le rôle prépondérant joué par la flore superficielle dans la maturation des fromages et l'existence de phosphatases d'origine fongique et bactérienne nous ont conduits à rechercher l'influence des agents microbiens de la maturation sur l'épreuve de la phosphatase appliquée aux fromages.

Dans une communication précédente [1], nous avons insisté sur le fait que la phosphatase qui prend naissance dans la croûte d'un fromage semblait diffuser lentement dans la masse de celui-ci et pouvait troubler les résultats de la recherche de la pasteurisation des laits mis en œuvre pour sa fabrication.

Il nous a paru intéressant de déterminer la vitesse de cette diffusion afin d'établir les délais dans lesquels l'épreuve garde quelque valeur.

Les essais ont porté sur des fromages à pâte molle, à croûte moisie et sur des fromages à pâte pressée cuite.

I. Essais effectués sur fromages à pâte molle à croûte moisie Camembert.

Une série de fromages a été fabriquée à partir du lait pasteurisé d'une même cuve et ensuite traitée normalement. Le test de la phosphatase leur a été appliqué à divers stades de la fabrication. Les prélèvements ont été faits, avec toutes les précautions nécessaires pour éviter les apports de la diastase vers le centre, à la surface, à 5 mm. de la surface, au centre du fromage. Nous avons utilisé pour le dosage de la phosphatase la méthode de Sanders et Sager [2].

Les résultats, exprimés en millièmes de milligrammes de phénol

libéré du phénylphosphate par la phosphatase sont consignés au Tableau I et sur le graphique I.

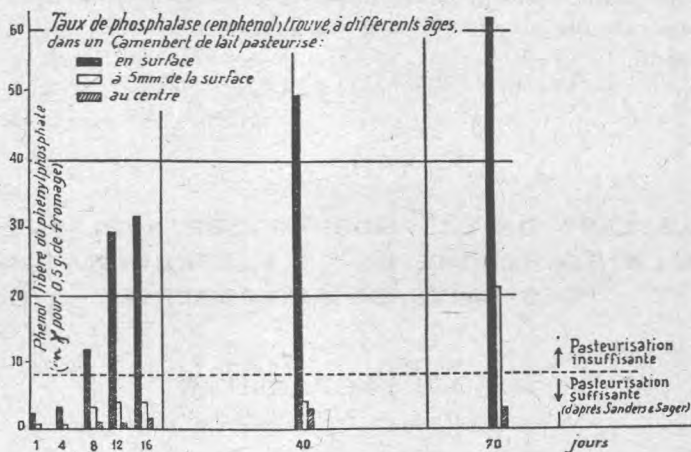


TABLEAU I
PHÉNOL LIBÉRÉ DU PHÉNYLPHOSPHATE (EN γ)

	1 ^{er} jour après mou- lage	4 ^e jour après salage	8 ^e jour appa- ri- tion du <i>Peni- cillium</i>	12 ^e jour	16 ^e jour	40 ^e jour	70 ^e jour
En surface	2	3	12	30	32	50	62
A 5 mm. de la surface	0	0	3	4	4	4	21
Au centre	0	0	1	1	2	3	3

Ils indiquent que dans les délais normaux de maturation des fromages du type Camembert (20 à 30 jours), la phosphatase ne semble pas apparaître assez rapidement dans le centre du fromage pour gêner la recherche de l'efficacité de la pasteurisation du lait mis en œuvre.

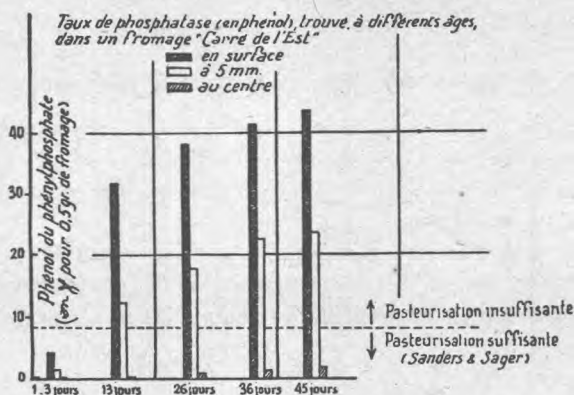
Carré de l'Est

Cependant, l'élévation brusque de la quantité de phénol libéré dans la couche située à 5 mm. de la croûte quand la pâte du fromage se solubilise devait nous inciter à faire un essai analogue sur le fromage « Carré de l'Est ».

Ce fromage à croûte moisie diffère du Camembert par sa forme — il est moins épais — et par sa fabrication : il provient d'un caillé

divisé. Sa maturation en profondeur est par suite plus rapide. Le test reste-t-il valable pour cette variété de fromage ?

Le tableau II et le graphique II montrent, en effet, une variation beaucoup plus rapide du taux de phosphatase à 5 mm. de la surface,



déjà très important après treize jours. Mais, même après quarante-cinq jours, il reste encore nul au centre du fromage. A cet endroit, le test conserve sa valeur.

TABLEAU II

	1 ^{er} jour	3 ^e jour	13 ^e jour	26 ^e jour	36 ^e jour	45 ^e jour
En surface	0	4	30	38	40,5	43
A 5 mm. de la surface	0	1	12	18	22	25
Au centre	0	0	0	1	1	1

Nous tirerons cependant de ces constatations les conclusions suivantes :

1. Le fait que le taux de phosphatase n'a pas varié au centre du fromage, malgré l'achèvement de la maturation et la protéolyse, semble bien prouver que la phosphatase apparue dans la zone intermédiaire provient de la surface. La coloration des essais à blanc, chauffés (*Cf.* Technique du dosage de Sanders et Sager), permet par ailleurs de séparer l'influence des radicaux phénols des acides aminés libérés au cours de l'affinage de celle du phénol libéré du phénylphosphate par la phosphatase.

2. Il convient d'observer une extrême prudence dans l'interprétation des résultats chaque fois que l'essai est effectué sur un fromage affiné. Même en respectant les précautions indiquées par

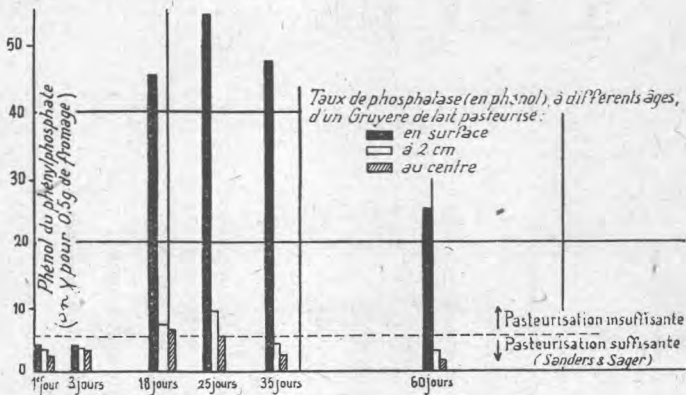
SANDERS et SAGER (*loc. cit.*), dans le but d'éviter l'entraînement de fragments de la croûte dans l'échantillon prélevé au centre, il devient difficile de faire le prélèvement dans la zone de faible épaisseur dépourvue de phosphatase de certains fromages plats.

Il sera toujours préférable d'appliquer le test sur des fromages frais.

II. Essais effectués sur des fromages à pâte pressée, cuite

Nous avons émis l'hypothèse que, dans les fromages du type Gruyère, la formation d'une croûte et les soins réguliers apportés à celle-ci, sont peut-être un obstacle à la formation de phosphatase fongique ou microbienne.

Un essai analogue aux précédents, avec des prélèvements effectués dans la croûte, à 2^e et 4 centimètres de profondeur, nous a conduits aux résultats exprimés au tableau III et au graphique III.



On assiste, dans toute la masse du fromage, à une augmentation du taux de phosphatase qui passe par un maximum pour diminuer ensuite.

TABLEAU III

GRUYÈRE PASTEURISÉ — γ DE PHÉNOL LIBÉRÉ DU PHÉNYLPHOSPHATE

	1 ^{er} jour sortie de presse	3 ^e jour sortie de saumure	18 ^e jour	25 ^e jour	35 ^e jour	59 ^e jour
Dans la croûte	4	4	45	55	46	26
A 2 cm. de la croûte . . .	4	4	7	9,5	5	3,5
A 4 cm. de la croûte . . .	2	2	7,5	6	3	1

Si l'on se réfère au travail de SANDERS et SAGER (*loc. cit.*) qui fixent à 6 γ de phénol libéré pour 0 gr. 5 de fromage la limite au-dessus de laquelle un fromage doit être considéré comme provenant d'un lait insuffisamment pasteurisé, le gruyère soumis à l'essai, à phosphatase négative au début, n'aurait pas résisté à l'épreuve entre le 15^e et le 30^e jour de sa maturation. Par contre, après un mois, il pouvait à nouveau être considéré comme provenant d'un lait pasteurisé.

Cette disparition de la phosphatase méritait une confirmation : nous l'avons vérifié sur deux petits gruyères provenant d'un lait insuffisamment pasteurisé, prélevés dans une usine qui recherche non pas la pasteurisation effective, mais un simple « chauffage d'arrêt » (75°) lui permettant la conduite normale de sa fabrication.

Les résultats consignés aux tableaux IV et V ont servi à l'établissement des graphiques correspondants.

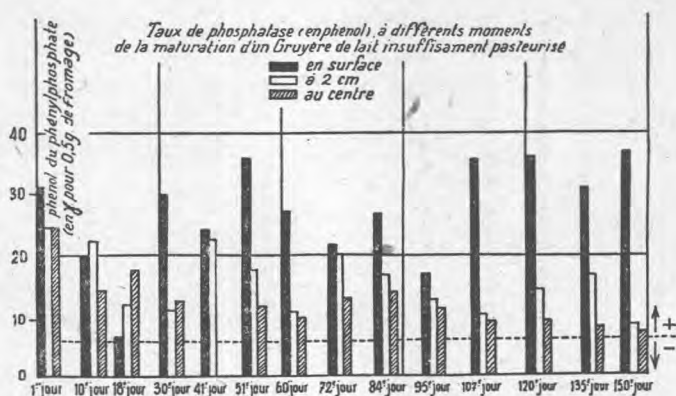


TABLEAU IV

	1 ^{er} jour sortie de saumure	10 ^e jour	18 ^e jour	30 ^e jour	41 ^e jour	51 ^e jour	60 ^e jour	72 ^e jour	84 ^e jour	95 ^e jour	107 ^e jour	120 ^e jour	135 ^e jour	147 ^e jour
Croûte ...	29	20	6	28	24	35	27	21	26,5	17	36	36	31	36,5
A 2 cm. ...	24	22	13	11	23	18	11	20	17	13	11	13	17	8
A 4-5 cm. .	24	15	17	13	—	12	10	13	14,5	12	9,5	9	8	8

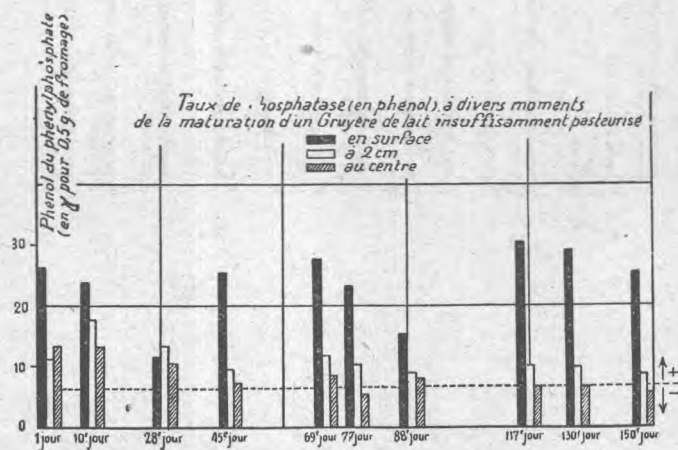
Le taux de phosphatase de la croûte présente des irrégularités : les points bas coïncident avec des prélèvements effectués immédiatement après les soins en cave. A partir du moment où ces soins

ont cessé, la croûte étant bien formée, le taux de phosphatase se stabilise. Il convient de noter l'influence du taux de phosphatase de la croûte sur celui de la partie sous-jacente, qui présente, aussi, des irrégularités moins prononcées.

TABLEAU V

	1 ^{er} jour sortie de saumure.	10 ^e jour	28 ^e jour	45 ^e jour	47 ^e jour	69 ^e jour	77 ^e jour	88 ^e jour	103 ^e jour	117 ^e jour	130 ^e jour	153 ^e jour
Croûte ...	26	23	12	24,5	11	28	23	15	—	31	30	25
A 2 cm. ...	11	17	13	9	16	12,5	11	8	6	8,5	8,5	7,5
A 4-5 cm. .	13	13	11	6,5	7,5	8	4,5	8	—	6	6	5

Mais la chute lente et continue du taux de phosphatase dans le centre du fromage doit surtout retenir notre attention. Le taux de phénol libéré passe, en effet, pour l'un des fromages de 24 à 8 γ et pour l'autre de 13 à 5 γ . Ce dernier fromage (graphique V), bien qu'insuffisamment pasteurisé présente, après cinq mois de stockage, une réaction de la phosphatase négative (selon SANDERS et SAGER) ou tout au moins douteuse.



Contrairement à notre attente, le test de la phosphatase se heurte donc dans les fromages du type Gruyère à des obstacles encore plus importants que ceux rencontrés dans les fromages à pâte molle et à croûte moisie. En effet, un fromage provenant d'un lait effectivement pasteurisé peut être jugé comme non pasteurisé dans les premiers mois de sa maturation ; mais, par ailleurs, un fromage pro-

venant d'un lait cru, pauvre en phosphatase, ou d'un lait insuffisamment chauffé peut, après quelques mois de conservation, passer pour un fromage de lait pasteurisé.

Hypothèse sur la disparition de la phosphatase dans le fromage de Gruyère

Etant donné les phénomènes de dégradation protéolytique dont un fromage, est le siège au cours de sa maturation, nous avons pensé qu'ils pouvaient intéresser l'apoenzyme de la phosphatase au même titre que les protéines du fromage ; son support protéinique étant disloqué, la diastase perdrait son activité.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons, dans un premier essai, soumis 100 millilitres de lait cru à une digestion à 30° C. par milligramme de papaïne et de pepsine ; en voici les résultats :

	Phénol libéré du phénylphosphate en γ
Avant digestion	92
Après 24 heures de digestion par la papaïne	3
Après 24 heures de digestion par la pepsine	1

Mais la conservation du fromage s'effectuant à des températures plus basses, il convenait d'étudier les possibilités d'action des protéinases aux températures normales de maturation.

Des échantillons de 100 millilitres de lait cru ont été additionnés de 0 mgr. 010 de pepsine, de papaïne et de trypsine, et placés à 15° :

PHÉNOL LIBÉRÉ PAR LA PHOSPHATASE

	Au début de l'essai	Après 72 heures	Après 48 heures	Après 28 heures	Après 19 heures
Témoin sans protéinase ..	62	54	53	53	54
Lait additionné de papaïne	62	50	45	39	42
Lait additionné de pepsine	62	58	38	30	18
Lait additionné de trypsine	62	54	51	35	18

La diminution du taux de phosphatase est donc encore très nette et très rapide à 15°.

Il n'est donc pas exclu de penser que les protéinases du fromage, qu'elles soient d'origine microbienne ou d'origine gastrique (pepsine de la présure restante), jouent un rôle dans la disparition lente de la

phosphatase au cours de la maturation du gruyère. Des essais sont en cours pour en préciser les conditions.

Conclusions

Les essais de dosage de la phosphatase pratiqués régulièrement au cours de la maturation des fromages laissent donc apparaître des difficultés importantes dans l'application de ce test de la pasteurisation des laits de fromagerie.

Dans les fromages à pâte molle, à croûte moisie, les phosphatases microbiennes et fongiques de surface pénètrent dans la masse. En général, elles n'ont pas le temps d'atteindre le centre au cours d'une maturation de durée normale. Cependant, de très grandes précautions doivent être observées dans les prélèvements.

Dans les fromages à pâte pressée, cuite, du type Gruyère, ces phosphatases apparaissent dans toute la masse ; mais, par contre, elles disparaissent ensuite lentement, au point qu'un fromage de lait insuffisamment pasteurisé peut présenter une réaction de phosphatase négative après quelques mois de stockage et passer pour un fromage de lait pasteurisé.

A l'époque où, dans les transactions commerciales, l'épreuve de la phosphatase appliquée aux fromages, se trouve préconisée de plus en plus fréquemment comme test de l'efficacité de la pasteurisation de la matière première, ces quelques points méritent de retenir l'attention et doivent inciter à la plus grande prudence dans la rédaction des conclusions et dans la généralisation trop hâtive de la méthode, qui semble n'avoir actuellement de valeur certaine que pour les fromages frais.

Remerciements :

Nous adressons nos remerciements à M. Gérard, industriel laitier au Tholy et à la Société des Fermiers Réunis qui ont bien voulu mettre leur matériel à notre disposition pour la fabrication des fromages d'essai.

- [1] A. CAMUS. Le sort de la phosphatase dans la conservation des fromages. *Communication au XII^e Congrès International de Laiterie*, Stockholm, 1949.
- [2] G. P. SANDERS et O. S. SAGER. Phosphatase test for various dairy products. *Journal of Dairy Science*, vol. XXX, décembre 1947.