



# LE LAIT

## REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

### SOMMAIRE

<b>MÉMOIRES ORIGINAUX :</b>	
E. E. VAN DE GEUCHTE. — Activité bactériostatique sélective sur <i>Streptococcus</i> <i>thermophilus</i> et <i>Lactoba-</i> <i>cillus bulgaricus</i> . . . . .	513
A. TAPERNOUX et A. MA- GAT. — Dosage de l'acide citrique dans les laits des- séchés ou concentrés . . . .	600
S. KUZDZAL-SAVOIE et W. KUZDZAL. — Les acides polyinsaturés du beurre . .	606
<b>SUPPLÉMENT TECHNIQUE :</b>	
G. GÉNIN. — Progrès récents dans la fabrication et les emplois du lactose . . . . .	616
<b>BIBLIOGRAPHIE ANALYTIQUE :</b>	
1 <sup>o</sup> Les livres . . . . .	637
2 <sup>o</sup> Journaux, Revues, Sociétés savantes . . . . .	650
3 <sup>o</sup> Brevets . . . . .	675
<b>BULLETIN BIBLIOGRAPHIQUE :</b>	
1 <sup>o</sup> Les livres . . . . .	681
2 <sup>o</sup> Journaux, Revues, Sociétés savantes . . . . .	683
3 <sup>o</sup> Brevets . . . . .	689
<b>DOCUMENTS ET INFORMATIONS :</b>	
Y. GANDON. — La situation laitière . . . . .	691
Recherches en laiterie effec- tuées en Suisse . . . . .	695
Communiqués . . . . .	700
Table des matières . . . . .	702
Table des auteurs . . . . .	706
Table des ouvrages analysés .	719

### MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

#### L'ACTIVITÉ BACTÉRIOSTATIQUE SÉLECTIVE SUR « STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS » ET « LACTOBACILLUS BULGARICUS »

par

Ingénieur E. E. VAN DE GEUCHTE

Professeur à l'Ecole Supérieure pour l'Agriculture  
et les Industries agricoles — Gand

Le lait est, tout aussi bien pour *Streptococcus thermophilus* que pour *Lactobacillus bulgaricus*, le milieu de culture le plus simple.

L'une et l'autre de ces bactéries se présentent normalement en symbiose dans le yoghourt ou yaourt.

Vu que ces bactéries sont directement distinguées, grâce à

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

leurs différences morphologiques évidentes, nous avons choisi ces deux espèces afin de contrôler l'influence bactériostatique de quelques colorants et sels minéraux.

Le but de l'examen était d'apprécier la spécificité de l'inhibition et, sur la base de ces données, de parvenir à l'isolement de chaque espèce, tout en employant les cultures mixtes de la pratique.

### I. — Propriétés des cultures de *Lactobacillus bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus*

Les microorganismes examinés possèdent les propriétés respectives suivantes :

#### a) *Streptococcus thermophilus* :

La température optimale de développement est de 40 à 50° C. Les coques ont un diamètre de 0,6 à 0,8  $\mu$ . Elles fermentent : glucose, lactose, fructose, sucrose et galactose. Elles ne fermentent pas : raffinose, arabinose, maltose, dextrine, inuline, glycérol, mannitol, sorbitol et salicine.

#### b) *Lactobacillus bulgaricus* :

Ces bacilles se montrent sous la forme de longs bâtonnets, allant jusqu'à 6  $\mu$ . Leur température optimale de culture se situe aux environs de 50° C.

Vis-à-vis des sucres, elles possèdent les mêmes propriétés que *Streptococcus thermophilus*.

Aucun des deux organismes ne produit d'indol, ne montre de réduction des nitrates et ne produit de gaz lors de la fermentation des sucres. Ils répondent normalement aux propriétés décrites dans *Bergey's Manuel of Determinative Bacteriology*.

### II. — Activité bactériostatique spécifique du bleu de bromothymol

Nous avons déterminé la possibilité de croissance d'une culture de *Streptococcus thermophilus* et d'une culture de *Lactobacillus bulgaricus* dans du lait auquel était ajouté une concentration croissante de bleu de bromothymol (b b.t).

Le bleu de bromothymol est un colorant acide, dérivé du sulfone-phtaleine, possédant des propriétés d'indicateur ; il vire du pH 6 au pH 7,6 [2].

Nous avons vérifié le développement de ces microbes dans du

lait au b.b.t., par la détermination du degré d'acidité, la coagulation, la variation de la couleur et la coloration de contraste [1].

Une première série d'essais nous a démontré en premier lieu que les bâtonnets étaient inhibés dans leur développement par une concentration de b.b.t. supérieure à 0,05 p. 100 ; après 24 h aucun changement ne s'était produit dans le lait contenant le b.b.t. Les coques résistaient à une concentration trois fois plus élevée. L'inhibition se produit seulement à une concentration de 0,25 p. 100. Les concentrations de 0,05 à 0,3 p. 100 ont une action bactériostatique, les concentrations plus élevées sont bactéricides.

Après prolongation de l'incubation, la quantité des tubes révélant la culture augmentait. Après 72 h nous avons remarqué la croissance chez les coques pour une concentration de 0,25 p. 100 ; une faible multiplication se produit chez les bâtonnets à la concentration de 0,075 p. 100 de b.b.t.

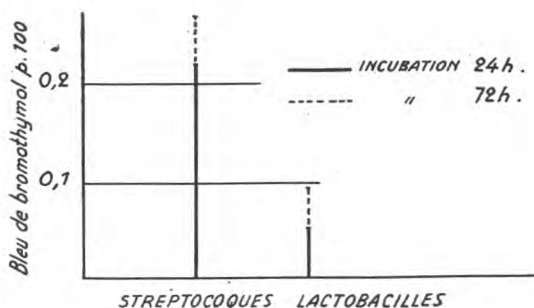


Fig. 1. — Zones de croissance des coques et des bâtonnets dans du lait contenant du bleu de bromothymol.

Ceci nous procurait un moyen d'isoler les coques d'une culture mixte de *Lactobacillus bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus* comme c'est le cas dans le yoghourt.

Nous avons fait des recherches afin de trouver un colorant possédant une action bactériostatique plus élevée sur les coques que sur les bacilles. A cet effet, une douzaine de colorants, appartenant à divers groupes chimiques, furent employés. Cette possibilité semblait exister et le vert de méthyle révéla l'action la plus sélective.

Avant de démontrer cette action, nous donnons un aperçu de l'action bactériostatique des quelques colorants examinés.

### III. — Action bactériostatique de quelques colorants

En ce qui concerne le *violet cristallisé* (Crystal Violet), il possède la même action bactériostatique sur les deux organismes.

En présence de 0,05 p. 100 de violet cristallisé dans le lait, on remarque une inhibition aussi bien des coques que des lactobacilles.

Le *vert brillant*, également un dérivé du triphenylméthane, connu pour son emploi dans les milieux spéciaux pour la séparation facile des colibacilles et des bactéries du groupe typhique, provoque dans le lait à une concentration de 0,05 p. 100, une inhibition aussi bien des coques que des lactobacilles.

L'*euflavine*, employée en microbiologie pour sa grande action inhibitrice sur les bactéries Gram positives, s'est révélée avoir une influence dix fois plus élevée que le violet cristallisé ou le vert brillant, mais, entre les deux organismes éprouvés, aucune différence de sensibilité envers ce colorant ne fut constatée.

Le pourpre de bromocrésol, le vert de bromocrésol et autres colorants acides sulphonephtaléines possèdent une action bactériostatique très faible.

#### IV. — Action bactériostatique spécifique du vert de méthyle

Le vert de méthyle (Double green, Vert double SF ou Vert léger) est un colorant basique dérivé du triphenyl-méthane, montrant une grande analogie avec le vert iodine, dérivé du violet cristallisé, par l'introduction d'un septième groupe de méthyle, sous l'action du chlorure de méthyle. Le colorant libère facilement ce groupe méthylique absorbé, de façon que le colorant violet, duquel il provient, apparaît régulièrement, et c'est ce qui explique le pouvoir métachromatique du vert de méthyle.

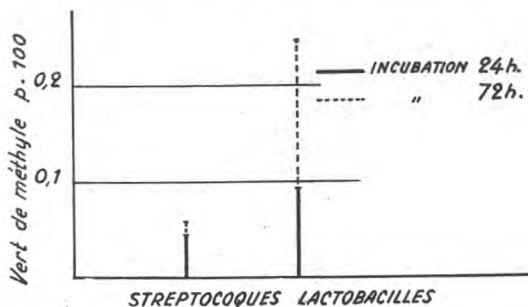


Fig. 2. — Développement de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus bulgaricus* dans du lait contenant du vert de méthyle.

Le vert de méthyle est connu dans les techniques microscopiques, en histologie, en bactériologie et en cytologie comme colorant des noyaux et des chromatines. Il a été employé par PAPPENHEIM pour la coloration des gonocoques [2].

Une teneur de 0,025 p. 100 de vert de méthyle dans le lait, inhibe le développement des streptocoques, tandis qu'une concentration de 0,1 p. 100 ne produit aucun effet sur les lactobacilles. Après 72 h on remarque le développement des coques pour une concentration de 0,05 p. 100 de vert de méthyle, mais non pour 0,075 p. 100 et, chez les lactobacilles, pour une concentration de 0,25 p. 100 mais non pour 0,3 p. 100.

Nous avons comparé expérimentalement la sensibilité de ces organismes dans des cultures mixtes 1,5/1 - 1/1 - 1/1,5 de lactobacilles et de streptocoques. Nous avons constaté la même action bactériostatique ainsi que la possibilité d'un isolement sans emploi de milieu de culture. Il a été possible d'isoler *Streptococcus thermophilus* d'un lait contenant 0,2 p. 100 de bleu de bromothymol et *Lactobacillus bulgaricus* d'un lait contenant 0,1 p. 100 de vert de méthyle. Quoique séparation et isolement soient déjà possibles à de basses concentrations de b.b.t. et de v.m., nous avons choisi des concentrations assez élevées, à cause des protéines du lait qui sont des antagonistes par rapport aux microbes. Les protéines possèdent une action protectrice en inactivant partiellement l'action bactériostatique des colorants.

Après emploi de ces colorants dans des milieux liquides et solides, nous avons constaté une action bactériostatique très élevée à 1/100 des concentrations mentionnées.

Aux concentrations les plus élevées (sans trop influencer les espèces les plus sensibles) la sélectivité de l'isolement fut la plus grande.

#### V. — Isolement d'une culture à partir du yoghourt

Afin de vérifier la séparation obtenue sur une culture mixte de *Lactobacillus bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus*, divers échantillons de yoghourt de différentes laiteries ont été prélevés. Pour chaque série d'essais nous avons fait la comparaison avec les organismes d'épreuve des recherches préalables. Le contrôle de la croissance dans le lait, contenant le bleu de bromothymol ou le vert de méthyle a été fait au moyen de la coloration de contraste [1].

Pour le lait contenant du vert de méthyle, la limite de ce développement allait jusqu'à une concentration de 0,1 p. 100 de colorant ; pour le lait au bleu de bromothymol, jusqu'à une concentration de 0,3 p. 100 de colorant.

Le développement des streptocoques fut complètement arrêté à une concentration de 0,05 p. 100 de vert de méthyle ; les lactobacilles disparurent de la culture pour une concentration de 0,15 p. 100 de bleu de bromothymol.

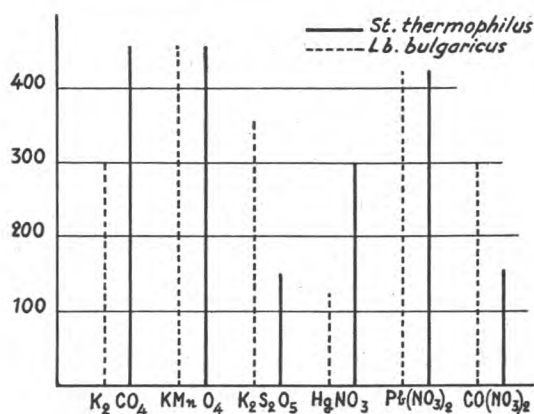


Fig. 3. — Inhibition spécifique de trois sels de potasse avec action bactériostatique des anions et de trois nitrates avec cations inhibiteurs.

Pour l'isolement, en partant d'une culture industrielle, les concentrations suivantes paraissent praticables : 0,05 à 0,1 p. 100 de v.m. dans le lait pour isoler les lactobacilles et 0,2 à 0,25 p. 100 de b.b.t. pour l'isolement des streptocoques.

En ensemençant (en partant de lait contenant la plus haute concentration en b.b.t. et en v.m. dans laquelle une croissance est encore possible) dans des tubes avec du lait contenant des concentrations de b.b.t. ou de v.m. toujours plus élevées, il fut possible de produire des modifications dans l'action inhibitrice. Les organismes d'épreuve finissaient par résister à des concentrations 3 à 4 fois plus élevées.

#### VI. — Action inhibitrice des sels minéraux (Fig. 3)

Une vingtaine de sels minéraux ont été examinés quant à leur action sélective sur des cultures pures de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus bulgaricus* dans le lait. Il n'y a pas de grande différence, dans la tolérance envers ces sels, pour les deux organismes d'épreuve. Il y a une inhibition en présence de 3 p. 100 de NaCl dans le lait, tandis qu'à une concentration de 2,5 p. 100, l'influence est presque nulle.

Comme cations, avec une action inhibitrice, nous avons examiné :  $Al^{+++}$ ,  $Ag^+$ ,  $Pb^{++}$ ,  $Mn^{++}$ ,  $Sb^{+++}$ ,  $Cu^{++}$ ,  $Ni^{++}$ ,  $Ba^{++}$ ,  $Fe^{++}$ ,  $Sn^{++}$  et comme anions :  $MnO_4^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $CrO_4^-$ ,  $S_2O_5^-$  et  $B_2O_7^-$ .

Les sels  $\text{HgNO}_3$  et  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  donc les cations Hg et Co, montraient le plus de divergence par rapport aux organismes d'épreuve. Vis-à-vis des anions chromate et métabisulfite, nous avons également trouvé des tolérances opposées.

#### VII. — Inhibition spécifique de $\text{HgNO}_3$ et de $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$

0,01 p. 100 de  $\text{HgNO}_3$  inhibe les lactobacilles, tandis que les streptocoques se développent encore à une concentration double.

On ne remarque qu'une modification très lente, et la tolérance augmente légèrement après plusieurs ensemencements.

0,02 p. 100 de  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  inhibe les streptocoques, tandis que 0,025 p. 100 a peu d'influence sur le développement des lactobacilles.

En partant des plus hautes concentrations permettant encore une croissance, on obtient les modifications suivantes : pour les coques, une croissance jusqu'à 0,05 p. 100 de  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ , et pour les lactobacilles, jusqu'à 0,02 p. 100 de  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ .

#### VIII. — Isolements à partir de yoghourt

Comme pour les colorants, nous avons essayé d'obtenir une séparation de différentes cultures de yoghourt. La méthode employée était la même que pour les colorants.

La tolérance vis-à-vis de  $\text{HgNO}_3$  était assez différente pour diverses cultures, aussi bien pour *Streptococcus thermophilus* que pour *Lactobacillus bulgaricus*.

Vis-à-vis de  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ , la tolérance fut souvent plus grande que la valeur expérimentée dans les épreuves préalables. Les sélections avec 0,015 p. 100 de  $\text{HgNO}_3$  et 0,025 p. 100 de  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  dans du lait donnait, pour presque la moitié des échantillons, des résultats douteux : ou bien les coques ne se développaient pas dans le « lait  $\text{HgNO}_3$  » ou bien les coques étaient encore présentes parmi les bâtonnets dans le « lait  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  ». La cause de ces résultats aberrants pourrait être attribuée à la grande affinité des protéines du lait pour les cations employés.

#### Conclusion

En se basant sur les essais précédents, il ressort que *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* possèdent une sensibilité souvent différente envers les colorants et les sels minéraux. Se basant sur la différence de résistance, nous avons examiné la

possibilité de séparer ces deux organismes, en symbiose dans les cultures de yoghourt, par le choix d'agents appropriés.

La résistance de *Streptococcus thermophilus* est plus élevée vis-à-vis du bleu de bromothymol et de  $\text{HgNO}_3$ ; celle de *Lactobacillus bulgaricus* est plus grande vis-à-vis du vert de méthyle et de  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ .

Après des examens sur des cultures industrielles, nous avons constaté que cette propriété était moins constante vis-à-vis des sels minéraux que vis-à-vis des colorants. L'emploi des colorants bleu de bromothymol et vert de méthyle permet des isolements sûrs et faciles.

### Summary

We have sought to find a specific inhibition that would easily separate a mixed culture (yoghourt), *Streptococcus lactis* and *Lactobacillus bulgaricus*. We have thus shown that bromothymol blue and methyl green make possible sure and easy isolations. On the other hand the mineral salts with which we experimented did not give constant results.

### BIBLIOGRAPHIE

- [1] E. E. VAN DE GEHUCHTE. *Milchwissenschaft*, **15**, 597-599. 1960.  
[2] MCCLUNG. *Handbook of Microscopical Technique*, 3<sup>th</sup> ed. Paul B. Høber. New-York. 1950.

## DOSAGE DE L'ACIDE CITRIQUE DANS LES LAITS DESSÉCHÉS OU CONCENTRÉS) (1)

par

A. TAPERNOUX et A. MAGAT

Professeur de Chimie      Agrégé de Chimie

Laboratoire de Physique et Chimie de l'Ecole Nationale Vétérinaire — Lyon

L'addition éventuelle d'acide citrique comme stabilisant des laits desséchés ou conservés impose à l'expert chimiste et aux organismes chargés du contrôle de disposer d'une technique analytique convenable pour le dosage de cette substance, ainsi que de connaître les concentrations que l'on peut rencontrer dans le lait normal sous ses diverses formes d'utilisation.

(1) *Ann. Nut. Al.* (C.N.R.S.), 1960, **14**, 81.