

Contribution à l'étude de la protéolyse des laits réfrigérés et incidences sur le rendement d'une fabrication de fromages à pâte molle

par

M. FEUILLAT, S. LE GUENNEC et A. OLSSON

(avec la collaboration technique de HORY C.)
Laboratoire de Chimie Technologie, E.N.I.T.A. de Dijon
21800 Quétigny

Dans une étude conduite antérieurement (1972), nous avons mis en évidence une relation favorable entre une légère protéolyse du lait, telle qu'elle se produit dans la maturation traditionnelle, et la croissance des bactéries lactiques utilisées en fromagerie. Nous avons proposé une maturation des laits réfrigérés par ensemencement d'une souche de microcoque caséolytique isolée par Desmazeaud et Devoyod (1970) et capable d'hydrolyser les protéines en peptides, ces derniers pouvant avoir un effet stimulant vis-à-vis des bactéries lactiques.

A l'inverse de cette protéolyse dirigée, nous étudions aujourd'hui une protéolyse accidentelle pouvant se produire au cours du stockage du lait à basse température sous l'action des bactéries psychrotrophes et nous envisageons les incidences technologiques de ce phénomène sur une fabrication de fromages à pâte molle, conduite et contrôlée par l'un de nous (1975).

La teneur en bactéries psychrotrophes du lait dépend de nombreux facteurs : l'hygiène de la traite, le mode d'alimentation des animaux, le nettoyage et la désinfection de la vaisselle laitière... et elle est extrêmement variable d'une étable à l'autre : le rapport psychrotrophes / flore totale peut ainsi varier de 3 à 90 p. 100.

Pour la réfrigération et le stockage à des températures de + 4° C, + 5° C, cette contamination initiale du lait est primordiale pour la multiplication ultérieure des germes psychrotrophes. D'après Lenoir *et al.* (1974) une contamination initiale inférieure à 500 germes par ml permet de ne pas dépasser le seuil de 1 500 germes par ml après 3 j de conservation à des températures de + 3° C à + 5° C, alors que pour des laits plus fortement pollués à la traite le taux final d'ensemencement peut atteindre ou même dépasser 1 million de germes par ml.

Un autre facteur important est la température de réfrigération. Le temps de génération des bactéries psychrotrophes présente des variations importantes pour quelques degrés d'écart au voisinage de la température minimale de croissance. Dans l'étude déjà citée, Lenoir *et al.* (1974) indiquent que pour *Pseudomonas fluorescens* le temps de génération augmente de 8 h entre + 4° C et + 1° C et de 2 h seulement entre 14° C et 11° C. Etudiant le développement des psychrotrophes à différentes températures, Durr (1974) précise qu'à + 2° C tout développement est arrêté pendant 4 j, alors qu'à + 4° C les échantillons de qualité moyenne (de 100 à 500 000 germes par ml) ne peuvent être conservés plus de 3 j sans dépasser des taux d'ensemencement de 1 à 2 millions de germes par ml.

Dans ce travail, nous étudions l'influence du taux initial de contamination du lait et de la durée de son stockage à + 4° C sur la protéolyse du lait par les bactéries psychrotrophes et leur incidence sur les rendements de la fabrication fromagère.

PROTOCOLES D'ETUDE ET METHODES ANALYTIQUES

I. Protocole d'étude

La réfrigération du lait est assurée par un tank dit « 4 traites » d'une contenance de 420 l, rempli en 2 j avec un mélange de laits du matin et du soir provenant de cinq producteurs différents.

La température de réfrigération est de + 4° C, contrôlée à l'aide d'un thermomètre enregistreur, et la durée du stockage est de 5 j avec un prélèvement quotidien de 20 l de lait destinés à une fabrication de fromages à pâte molle à croûte fleurie.

Les laits utilisés, de très bonne qualité bactériologique, et en particulier très peu contaminés en psychrotrophes (de 500 à 2 500 germes par ml), ont été enrichis artificiellement par ensemencement, lors des apports de lait dans le tank, de deux souches protéolytiques de *Pseudomonas** en quantité plus ou moins importante.

Trois séries d'essais ont été réalisés sur trois classes de lait définies chacune par leur contamination initiale en psychrotrophes :

- classe A : lait non enrichi (de 500 à 2 500 germes par ml),
- classe B : lait faiblement enrichi (de 700 à 20 000 germes par ml),
- classe C : lait fortement enrichi (de 3 500 à 50 000 germes par ml).

* Ces souches nous ont été aimablement fournies par la Station de Recherches Laitières de Jouy-en-Josas à laquelle nous adressons nos remerciements.

II. Méthodes analytiques

1) CONTRÔLES BACTÉRIOLOGIQUES

Pour chaque essai, on effectue 8 prélèvements de lait, qui s'échelonnent dans le temps de la façon suivante :

— 4 correspondant respectivement aux 4 approvisionnements du tank en lait du matin ou du soir,

— 1 correspondant au mélange des 3 premières traites (lait de report), immédiatement avant l'apport de la quatrième,

— 3 correspondant respectivement aux 3^e, 4^e et 5^e j de réfrigération.

Pour chacun de ces prélèvements on procède à des dénombrements de germes totaux et de germes psychrotrophes par culture sur « Plate Count Agar », incubés les premiers pendant 72 h à + 31° C, et les seconds pendant 10 j à + 7° C.

2) MESURES DE pH

Elles ont été réalisées à l'aide d'un pH-mètre.

3) DÉTERMINATION DE L'INDICE DE PRISE

La détermination de cet indice s'effectue à l'aide d'une éprouvette graduée de 500 ml dont le fond est perforé d'un trou de 2 mm de diamètre.

On ajoute successivement 500 ml de lait, 5 ml de présure et 2 ml d'eau, portés préalablement à 32° C. On agite d'une façon régulière et on laisse s'écouler le lait jusqu'à coagulation. On lit la graduation g correspondant à l'arrêt de l'écoulement.

L'indice de prise correspond à la différence 500 g.

Remarque : La dose de présure est calculée pour qu'il s'écoule dans le cas d'un lait frais, environ 250 ml.

4) ETUDE DE LA PROTÉOLYSE PAR ULTRA-FILTRATION ET CHROMATOGRAPHIE SUR SEPHADEX G 25

a) Principe

Les produits de l'hydrolyse de la caséine résultant de l'activité protéolytique de la flore psychrotrophe sont séparés dans les sérums après précipitation isoélectrique, d'une part par ultra-filtration sur une membrane « Millipore » permettant la rétention des protéines solubles d'un poids moléculaire supérieur ou égal à 20 000, d'autre part par chromatographie de l'ultra-filtrat sur une colonne de Sephadex G 25 qui assure l'exclusion des composés d'un poids moléculaire supérieur ou égal à 5 000.

b) Mode opératoire

Les différentes opérations du traitement de l'échantillon se succèdent dans l'ordre indiqué dans le tableau donné ci-dessous :

Echantillon de lait (30 ml)

↓ Précipitation isoélectrique (pH = 4,6) et centrifugation (5000 t/mn ; 20 mn).

Sérum surnageant

↓ Ultra-filtration sur membrane dans le rapport de 1 à 10.

Ultra-filtrat

↓ Concentration sous vide.

Ultra-filtrat concentré (10 ml)

↓

Chromatographie sur Sephadex G 25

(Colonne de 4,9 cm² de section et de 100 cm de longueur ; éluant = CH₃COOH1N ; débit = 40 ml/h).

5) CONTRÔLE DES RENDEMENTS DE LA FABRICATION FROMAGÈRE

a) Rendements en fromage frais :

Détermination du poids des fromages au moment du démoulage.

b) Rendements en extrait sec :

Dessiccation à l'étuve à 103° C pendant 15 h.

c) Rendements en matières azotées :

Evaluation par différence entre les teneurs en matières azotées du lait de fabrication et du sérum correspondant ; ces teneurs étant déterminées à l'aide de l'appareil « Pro-Milk ».

Remarque : Pour plusieurs essais de fabrication fromagère, nous avons effectué une micro-détermination de l'azote contenu dans les sérums à l'aide d'une minéralisation en continu et d'un dosage colorimétrique de l'ammoniac selon la réaction de Berthelot ; la technique étant entièrement automatisée sur une chaîne d'analyse séquentielle « Technicon ».

RESULTATS

I. Croissance des bactéries psychrotrophes au cours de la réfrigération

Le tableau 1 donne un exemple des analyses microbiologiques qui ont été effectuées pour chaque essai dans chacune des classes de lait étudiées.

Les tableaux 2 et 3 correspondent aux moyennes établies pour les différents essais réalisés dans chacune des classes de lait en vue de calculer respectivement l'évolution du pourcentage de psychrotrophes par rapport aux germes totaux au cours de la réfrigération et le taux de multiplication des psychrotrophes après 5 j de stockage. Deux facteurs principaux : le taux de contamination initiale et la durée du stockage à basse température conditionnent la croissance des bactéries psychrotrophes au cours de la réfrigération.

TABLEAU 1

Evolution de la flore microbienne : germes totaux et psychrotrophes au cours de la réfrigération
(M = approvisionnement du matin ; S = approvisionnement du soir ; R = lait de report)

Nature des germes	Classes de lait	Durée de la réfrigération à + 4° C (jours)				
		J	J + 1	J + 2	J + 3	J + 4
Germes totaux par ml	A	M = 216 000 S = 34 500	M = 57 500 S = 40 000 R = 163 000	146 500	185 000	239 000
	B	M = 231 000 S = 124 000	M = 253 000 S = 150 000 R = 168 000	150 000	243 000	522 000
	C	M = 160 000 S = 112 000	M = 144 000 S = 250 000 R = 634 000	715 000	1 346 000	2 950 000
Psychrotrophes par ml	A	M = 1 500 S = 300	M = 10 S = 150 R = 2 950	3 500	3 800	17 200
	B	M = 20 950 S = 350	M = 76 700 S = 2 570 R = 6 300	45 000	70 000	335 000
	C	M = 53 000 S = 2 800	M = 28 500 S = 77 750 R = 84 300	224 750	342 000	2 080 000

TABLEAU 2

Rapport psychrotrophes / germes totaux (en p. 100)

Classes \ Dates	Approvisionnement des jours J et J + 1	J + 2	J + 3	J + 4
A	0,80	2,72	3,67	6,09
B	8,67	31,16	37,10	81,37
C	35,18	57,35	57,83	100,00

TABLEAU 3

Taux de multiplication des germes après 5 j de conservation
(par rapport au nombre moyen de germes dans les laits d'approvisionnement)

Classes \ Nature des germes	Germes totaux	Psychrotrophes
A	3.6	21.2
B	2.8	34.3
C	16.1	57.3

1) INFLUENCE DE LA CONTAMINATION INITIALE

Le nombre de bactéries psychrotrophes, après 5 j de réfrigération, reste inférieur à 50 000 germes par ml dans les laits de la classe A, inférieur à 500 000 germes par ml dans les laits de la classe B, mais il devient supérieur à 2 000 000 de germes par ml dans les laits de la classe C. Ces numérations correspondent à des taux respectifs de multiplication des psychrotrophes variant de 15 à 30 pour la classe A, de 20 à 45 pour la classe B et de 50 à 65 pour la classe C.

2) INFLUENCE DE LA DURÉE DU STOCKAGE

La multiplication microbienne : germes totaux et psychrotrophes, reste faible pendant les 3 premiers jours de la conservation : jours J, J + 1 et J + 2, et le taux des psychrotrophes par rapport aux germes totaux (tab. 2) demeure ensuite relativement stable entre le 3^e (J + 2) et le 4^e j (J + 3) de stockage. Ce phénomène est certainement à attribuer aux apports de lait frais pauvre en micro-organismes qui s'échelonnent sur les 2 premiers jours du stockage et qui équivalent pour chacun à une dilution du milieu quant à son taux d'ensemencement.

De plus, la phase de latence qui précède toute croissance microbienne est sans aucun doute assez longue à la température de + 4° C.

Ainsi, la multiplication des bactéries psychrotrophes ne devient réellement importante qu'entre le 4^e (J + 3) et le 5^e j (J + 4) de conservation, et si les pourcentages de cette flore demeure faibles dans les laits de la classe A (moins de 10 p. 100), ils sont alors très élevés dans les laits des classe B et C (de 80 à 100 p. 100).

II. Evolution du pH et de l'indice de prise

1) EVOLUTION DU pH

Les résultats rapportés dans le tableau 4 mettent en évidence pour les différentes classes de lait une évolution semblable du pH qui commence par diminuer légèrement, puis se stabilise et réaugmente en fin de conservation.

TABLEAU 4

Evolution du pH au cours de la réfrigération

Classes	Durée de la réfrigération à + 4° C (jours)				
	J	J + 1	J + 2	J + 3	J + 4
A	6,59	6,60	6,56	6,63	6,65
B	6,74	6,70	6,70	6,69	6,70
C	6,84	6,72	6,75	6,70	6,87

Le lait subirait donc d'abord une légère acidification par les bactéries lactiques à la faveur notamment des remontées de tempé-

rature occasionnées par les apports de lait chaud, puis une légère alcalinisation correspondant à la phase de multiplication intense des bactéries psychrothrophes et surtout sensible dans les laits les plus fortement contaminés (classe C).

2) EVOLUTION DE L'INDICE DE PRISE

L'indice de prise augmente pendant les premiers jours du stockage, puis diminue (fig. 1).

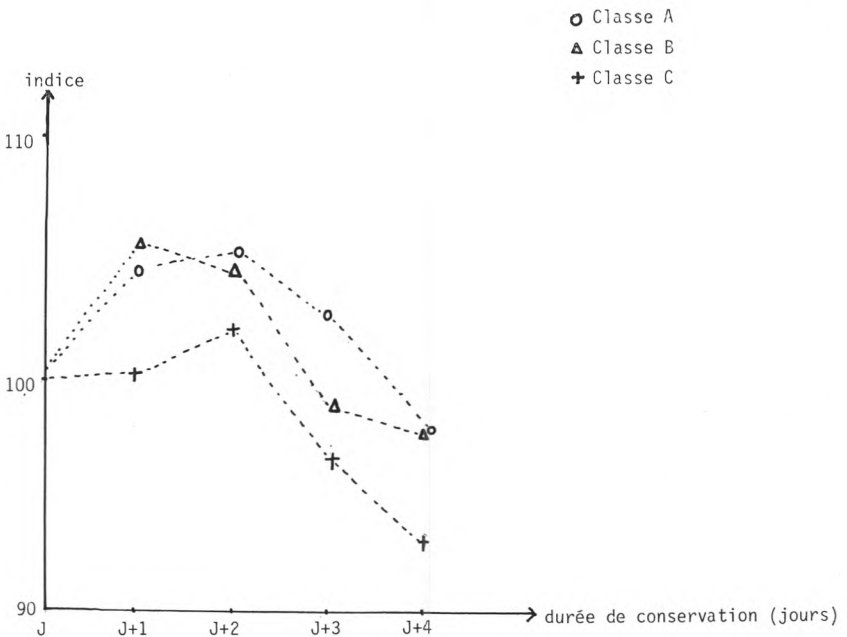


fig. 1

Evolution de l'indice de prise au cours de la réfrigération exprimée en p. 100 par rapport à l'indice de prise au jour J

L'allongement du temps de prise peut être attribué à une modification de la phase colloïdale telle qu'elle est décrite dans la littérature :

- dispersion plus grande des micelles de caséine,
- modification des équilibres salins...

Dans le cas d'une conservation prolongée au froid, ces modifications sont compensées par un effet de la réfrigération qui tend au contraire à raccourcir le temps de prise, et qui est en rapport avec le nombre de germes psychrotrophes et avec l'alcalinisation du lait. Ainsi, les chutes d'indice de prise sont beaucoup plus importantes dans les laits de la classe C.

Ces modifications physico-chimiques du lait : alcalinisation, diminution du temps de prise, observées pour des réfrigérations de longue durée et plus particulièrement dans le cas de laits fortementensemencés en bactéries psychrotrophes, nous ont amené à envisager un contrôle simultané de l'activité protéolytique de cette microflore.

III. Mise en évidence de la protéolyse au cours de la réfrigération

Après précipitation isoélectrique de la caséine et ultrafiltration des sérums sur une membrane d'un pouvoir de rétention de 20 000 (en poids moléculaire), la chromatographie sur colonne de Sephadex G 25 et l'étude de l'éluat par absorption dans l'U.V. à 278 nm permettent de repérer deux fractions principales d'azote soluble :

— l'une exclue du gel, d'un poids moléculaire compris entre 20 000 et 5 000, et correspondant aux protéoses et peptones,

— l'autre d'un poids moléculaire inférieur à 5 000 renfermant les peptides courts et les acides aminés libres, ou fraction d'azote assimilable.

Les chromatogrammes établis aux différents jours de la réfrigération d'une part pour un lait moyennement contaminé en psychrotrophes (classe B), et d'autre part pour un lait fortement contaminé (classe C) sont donnés respectivement sur les figures 2 (a) et 2 (b).

Dans le lait de la classe B, on observe une dégradation progressive de la fraction protéose peptone et une assimilation des composés de faible poids moléculaire : oligopeptides, acides aminés.

Dans le lait de la classe C, la fraction protéose peptone diminue légèrement pendant les 3 premiers jours du stockage, puis augmente fortement au cours du 4^e et surtout du 5^e j. On peut supposer que cet enrichissement correspond à une dégradation de la caséine par les germes psychrotrophes, et vraisemblablement à une dégradation de la caséine β selon l'hypothèse émise par Overcast (1959). Simultanément, il y a d'abord enrichissement puis consommation des acides aminés, avec apparition de produits intermédiaires de dégradation collectés dans un volume d'éluat voisin de 400 ml.

Cette forte protéolyse mise en évidence dans les laits de la classe C pour une réfrigération de longue durée aura, comme nous allons le voir, une influence assez marquée sur les rendements en extrait sec et en matières azotées des fabrications fromagères.

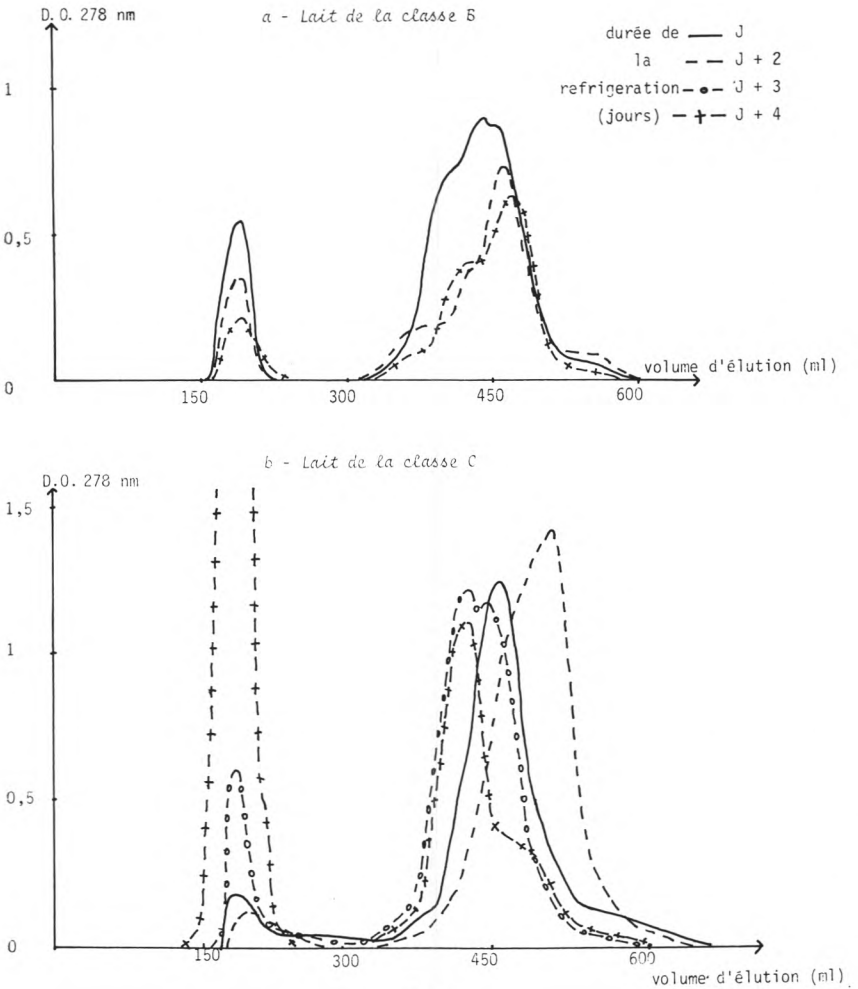


fig. 2

Chromatographie sur colonne de Sephadex G 25 des fractions peptidiques et acides aminés libres du lait, préalablement purifiées par précipitation isoélectrique de la caséine et ultrafiltration sur membrane 20 000.

IV. Influence de la protéolyse sur les rendements de la fabrication fromagère

Les tableaux 5 et 6 expriment respectivement en poids et en indices les rendements moyens obtenus au démoulage en fromage frais, en extrait sec et en matières azotées.

TABLEAU 5. — Rendements en fromages frais, extrait sec et matières azotées au démoulage

Classes	Durée de réfrigération (jours)																				Moyenne des classes			
	J				J + 1				J + 2				J + 3				J + 4							
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
A	19,20	36,53	7,123	77,13	20,27	34,80	70,71	75,78	19,52	36,17	8,053	75,16	20,21	35,48	7,080	74,94	20,21	33,21	6,735	75,49	19,86	35,20	7,012	75,70
B	17,98	36,66	7,487	76,60	19,46	36,26	7,087	76,37	19,01	37,55	7,257	75,73	19,19	35,87	7,117	76,38	18,35	36,96	6,765	75,45	18,80	37,04	7,143	76,11
C	18,44	37,86	7,110	76,82	19,98	35,61	6,970	76,82	18,89	36,27	6,745	73,47	18,66	35,71	6,765	73,93	18,02	34,89	6,415	72,87	18,80	36,07	6,801	74,78
Moyenne des jours	18,54	37,68	7,240	76,85	19,90	35,56	7,043	76,32	19,84	36,66	7,018	74,72	19,35	35,66	6,987	75,08	18,83	35,02	6,638	74,60	19,15	36,10	6,985	75,53

1. Rendement en fromages frais en kg/100 kg de lait.
2. ES en p. 100 du fromage frais.

3. ES en kg/100 kg de lait.
4. Rendement en matière azotée des fromages frais en p. 100.

TABLEAU 6. — Indices relatifs aux rendements en fromages frais, extrait sec et matières azotées au démoulage

Classes	Durée de réfrigération (jours)																				Moyenne des classes			
	J				J + 1				J + 2				J + 3				J + 4							
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
A	100	100	100	100	105,6	95,3	99,3	98,2	101,7	99,0	99,0	97,4	105,3	97,1	99,4	97,2	104,8	90,9	94,6	97,9	103,5	96,5	98,5	98,1
B	100	100	100	100	108,2	93,8	94,7	99,7	105,7	97,1	96,9	98,9	106,7	92,6	95,1	99,7	102,0	95,6	90,4	98,5	104,5	95,8	95,4	99,4
C	100	100	100	100	108,4	94,1	98,6	100	102,4	95,8	94,9	95,6	101,2	94,3	95,1	96,2	97,7	92,2	90,2	94,9	101,9	95,3	95,6	97,3
Moyenne des jours	100	100	100	100	107,4	94,4	97,3	99,3	103,3	97,3	96,9	97,3	104,4	94,7	96,5	97,7	101,6	92,9	91,7	97,1	103,3	95,9	96,5	98,3

1. Indices relatifs aux rendements en fromages frais (J = 100).

2. Indices relatifs à l'extrait sec en p. 100 (J = 100).

3. Indices relatifs à l'extrait sec / 100 kg de lait (J = 100).

4. Indices relatifs aux rendements en matière azotée (J = 100).

TABLEAU 7. — Extrait sec et teneur en matières azotées du sérum et indices (J = 100)

	Durée de réfrigération (jours)																				Moyenne des classes			
	J				J + 1				J + 2				J + 3				J + 4							
	ES %	I ₁	MA g/l	I ₂	ES %	I ₁	MA g/l	I ₂	ES %	I ₁	MA g/l	I ₂	ES %	I ₁	MA g/l	I ₂	ES %	I ₁	MA g/l	I ₂	ES %	I ₁	MA g/l	I ₂
A	6,62	100	9,58	100	6,56	99,1	9,67	100,9	6,58	99,4	9,64	100,6	6,58	99,4	9,96	104,0	6,60	99,7	9,72	101,5	6,60	99,5	9,71	101,4
B	6,46	100	9,39	100	6,36	98,5	9,42	100,3	6,48	100,3	9,57	101,9	6,53	101,1	9,29	98,8	6,63	102,6	9,56	101,8	6,49	100,5	9,44	100,6
C	6,45	100	9,19	100	6,79	105,3	9,58	104,2	6,59	102,2	10,61	115,5	6,66	103,3	10,58	115,1	6,82	105,7	10,66	116,0	6,66	103,3	10,12	110,2
Moyenne des jours	6,51	100	9,39	100	6,57	101,0	9,56	101,8	6,55	100,6	9,94	106	6,59	101,3	9,94	106,1	6,68	102,7	9,98	106,4	6,58	101,1	9,75	104,1

ES % : Extrait sec du sérum en p. 100.

I₁ : Indice relatif à l'extrait sec du sérum (J = 100).

Ma g/l : Teneur en matières azotées du sérum en grammes par litre.

I₂ : Indice relatif à la teneur en matières azotées du sérum (J = 100).

1) RENDEMENTS EN FROMAGE FRAIS ET EN EXTRAIT SEC

Avec les laits des classes A et B, les rendements en poids de fromage frais sont supérieurs dans le cas des fabrications en lait réfrigéré. L'augmentation par rapport aux fabrications en lait frais est de l'ordre de 1 kg par 100 kg de lait, quelle que soit la durée de la réfrigération. On peut attribuer ce phénomène aux modifications des caractéristiques physico-chimiques du lait réfrigéré, entraînant une moins bonne aptitude du caillé au travail mécanique et une perturbation de l'égouttage.

Avec les laits de la classe C, l'augmentation des rendements en fromage frais est en grande partie compensée par une diminution des rendements en extrait sec qui varie de 200 à 400 g par 100 kg de lait pendant les 3 premiers jours de la réfrigération, puis qui s'élève en fin de conservation à 700 g par 100 kg de lait, soit à environ 10 p.100 de la matière sèche totale des fromages fabriqués en lait frais.

Cette baisse des rendements en matière sèche est à attribuer en partie à ce que le caillé obtenu à partir de lait réfrigéré est plus friable et que les pertes par entraînement dans le sérum peuvent être accrues. Mais il existe aussi une relation avec l'activité des bactéries psychrotrophes présentes dans le milieu et engendrant la dégradation des matières grasses et des matières azotées.

2) RENDEMENTS EN MATIÈRES AZOTÉES ET ANALYSE DES SÉRUMS

L'examen des rendements en matières azotées fait apparaître qu'ils diminuent d'une façon parallèle aux rendements en matière sèche. Cette diminution peut atteindre 5 p.100 avec un lait conservé 5 j et renfermant deux millions de psychrotrophes par ml, c'est-à-dire avec un lait qui, comme nous l'avons vu plus haut par chromatographie, est alors fortement protéolysé.

Ces observations sur la diminution des rendements en extrait sec et plus particulièrement en matières azotées dans les fabrications à partir de laits fortement contaminés en psychrotrophes et réfrigérés pendant 5 j sont confirmées par l'analyse des sérums (tab. 7).

Dans les laits de la classe A, les pertes en matière sèche dans le sérum sont très faibles quelle que soit la durée de réfrigération, alors qu'elles sont apparentes à partir du 2^e j dans les laits de la classe C.

Plus significatifs encore sont les écarts en matières azotées du sérum en fonction de la pollution initiale du lait, puisqu'une analyse de variance a montré que les moyennes des classes A et B diffèrent significativement au seuil de 5 p.100 de la moyenne de la classe C. Ainsi, dans le cas des classes A et B, l'augmentation des pertes en matières azotées dans le sérum au cours de la réfrigération est de l'ordre de 1 p. 100, alors que pour la classe C elle est de 10 à 15 p. 100.

TABLEAU 8
Microdosages d'azote du sérum (en g/l)

Essais	Dates (jours)	J	J + 1	J + 2	J + 3	J + 4
	Classe B	IV V	12,48 11,63	12,48	11,96 10,93	11,79 11,10
Classe C	VI	10,75	12,14	12,83	12,83	16,65

Les microdosages d'azote du sérum donnés dans le tableau 8 et correspondant à des fabrications à partir des laits des classes B et C précédemment analysés par chromatographie sur Sephadex, précisent la très forte solubilisation de l'azote entre le 4^e et le 5^e j de réfrigération dans les laits fortementensemencés en psychrotrophes.

CONCLUSION

Le taux de contamination initiale en bactéries psychrotrophes du lait conditionne sa durée de conservation en tank à + 4° C, dans les conditions habituellement pratiquées à la ferme.

Ainsi, d'après les essais rapportés dans cette étude, il apparaît que pour des contaminations initiales de 500 à 2 500 germes psychrotrophes par ml, la durée possible du stockage est de 5 j. Par contre, pour des contaminations initiales plus élevées de 3 500 à 50 000 germes par ml, une durée de conservation au-delà de 3 j se traduit par une multiplication importante des bactéries psychrotrophes (plus de 500 000 germes par ml) et par une modification sensible des caractéristiques physico-chimiques du lait réfrigéré : légère alcalinisation, diminution de l'indice de prise.

Ces altérations physico-chimiques sont liées à l'activité protéolytique des bactéries psychrotrophes qui provoque une solubilisation partielle de la caséine, vraisemblablement de la caséine β , sous la forme de polypeptides d'un poids moléculaire compris entre 20 000 et 5 000, habituellement dénommés protéoses ou peptones.

Cette protéolyse des laits fortement contaminés en psychrotrophes et soumis à une réfrigération de longue durée a pour conséquence en fromagerie une diminution des rendements en matières azotées et parallèlement un enrichissement en azote des sérums.

Associée à d'autres facteurs non étudiés dans le cadre de cette expérimentation : activité lipolytique de la flore psychrotrophe, modifications des propriétés mécaniques du caillé, une protéolyse excessive des laits réfrigérés se traduit en définitive par une perte sensible d'extrait sec dans les fabrications fromagères.

Remerciements

L'expérimentation à l'origine de ce travail et les fabrications fromagères ont été réalisées à l'Ecole Nationale d'Industrie Laitière de Poligny, sous la direction de M. Mietton, Ingénieur des Travaux Agricoles, auquel nous adressons nos très sincères remerciements pour sa précieuse collaboration.

Summary

The authors study the influence of the initial level of contamination of the milk by psychrotrophe bacteria, the influence of the storing time at + 4° C on the proteolysis of the casein and their incidental effects on the manufacturing yield of soft cheese.

According to reports it seems that initial contamination by psychrotrophe bacteria amounts to 500 - 2 500 germs/ml the possible storage duration is five days. On the other hand for 3 500 - 50 000 germs/ml a storage exceeding 3 days leads to an important psychrotrophe bacteria multiplication (5×10^6 - 2×10^8 germs/ml) and to a partial solubilisation of casein into polypeptides having a molecular weight between 5 000 et 20 000.

This proteolysis of highly contaminated milk stored under a long lasting refrigeration leads in cheese industry to a decreased yield in protidic nitrogen of approximately 5 p. 100.

Reçu pour publication en avril 1976.

Bibliographie

- DESMAZEAUD (M.) et DEVOYOD (J. J.) (1970). — Action stimulante des microcoques caséolytiques sur les bactéries lactiques thermophiles. Mise en évidence de la nature peptidique des substances stimulantes. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 10, (3), 412.
- DURR (R.) (1974). — Le développement des bactéries psychrotrophes dans le lait cru réfrigéré. *Revue Laitière Française*, n° 326, 913.
- FEUILLAT (M.), DEMAIMAY (M.), GAUDIN (J. C.), GRUDE (P.), DUMARCHE (C.) (1972). — Importance de la protéolyse du lait sur la croissance des bactéries lactiques. Utilisation d'une souche de microcoque caséolytique en vue de la maturation et de la transformation du lait en fromagerie de Gruyère. *Le Lait*, (t. LII), n° 519-520, 629.
- LE GUENNEC (S.) (1975). — Contribution à l'étude de la protéolyse des laits réfrigérés et incidences technologiques sur la fabrication des fromages à pâte molle. Mémoire de fin d'études, E.N.I.T.A. de Dijon-Quetigny.
- LENOIR (J.), VEISSEYRE (R.), CHOISY (C.) (1974). — Le lait réfrigéré, matière première de la fromagerie moderne. *Revue Laitière Française*, n° 322, 453.
- OVERCAST (W. W.) (1959). — Psychrophilic microorganisms and keeping quality of milk and its products. *Journal of Dairy Science*, 51, 1336.