



HAL
open science

SUR LES FLORES BACTÉRIENNE ET FONGIQUE DES CAILLÉS DE LAIT. RÔLE DES SYMBIOSES DANS LA MATURATION DU CAMEMBERT (Suite)

Mademoiselle Françoise Sansonetti

► **To cite this version:**

Mademoiselle Françoise Sansonetti. SUR LES FLORES BACTÉRIENNE ET FONGIQUE DES CAILLÉS DE LAIT. RÔLE DES SYMBIOSES DANS LA MATURATION DU CAMEMBERT (Suite). *Le Lait*, 1930, 10 (97), pp.782-793. <hal-00894999>

HAL Id: hal-00894999

<https://hal.science/hal-00894999v1>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

2° Faire des prises de sang à intervalles variables ; les rapprocher quelquefois, les éloigner d'autres fois. En un mot, s'arranger pour avoir un nombre important de prises. Doser dans le plasma les acides gras et l'insaponifiable. Faire la moyenne ;

3° En face du taux butyreux moyen de la lactation tout entière, placer le taux moyen en acides gras par litre de plasma de l'animal et comparer.

Si la notion du « sang butyreux », telle que l'un de nous l'a suggérée, est bonne, nous devons avoir un parallélisme assez étroit entre les acides gras du sang et la matière grasse du lait, le meilleur beurrier étant celui dont le sang est le plus riche en acides gras.

Nous souhaitons que ces expériences soient faites. Elles coûteront de l'argent et de la peine, mais si elles sont entreprises selon le plan que nous venons de fixer, nul doute que l'étude de la physiologie de la lactation n'en recueille un grand bénéfice.

SUR LES FLORES BACTÉRIENNE ET FONGIQUE DES CAILLÉS DE LAIT

RÔLE DES SYMBIOSES DANS LA MATURATION DU CAMEMBERT

par

Mademoiselle FRANÇOISE SANSONETTI

Docteur en Pharmacie

(Suite)

ETUDE SYSTÉMATIQUE DES MOISSURES ET DES BACTÉRIES DU CAMEMBERT

A la Société de l'Abbaye de St-Georges d'Aunay (Calvados), nous avons fait choix en hiver de nombreux échantillons de caillé et de fromage. A l'aide d'une spatule en platine flambée, nous avons prélevé, sous la croûte, de petits fragments de caillé qui ont été déposés dans des tubes contenant du caillé stérile.

Deux Moisissures ont été isolées et étudiées : un *Oidium* et un *Penicillium*. Nous avons obtenu en culture pure différentes espèces bactériennes : des cocci de $2,8 \mu$, prenant le Gram et liquéfiant très rapidement la gélatine ; des bacilles dont une espèce formée de bâtonnets de 5μ de long, aux extrémités effilées, ne prend pas le Gram. Les éléments d'une autre souche sont extrêmement courts ($0,8 \mu$) et prennent le Gram. Nous avons étudié seulement une bactérie dont les formes d'involution sont nombreuses et qui présente un bouquet spécifique de Camembert ; il en est parlé plus loin.

Sur les fromages insuffisamment salés nous avons prélevé un

mélange de bactéries. Leur isolement eût été fort long. Nous avons préféré étudier leur action globale qui seule nous intéressait, tout en reconnaissant ce que cette manière de faire peut avoir d'insuffisant. Nous y reviendrons dans des recherches ultérieures.

A. — ÉTUDE DU PENICILLIUM

a) *Méthode d'isolement.* — Nous avons procédé à des cultures monospores suivant la technique de BAINIER. En cellule de VAN TIEGHEM, le sérum d'empré-surage forme des dépôts cristallins qui rendent malaisée la numération des spores ; le milieu de SABOURAUD remplace avantageusement le sérum ; il est préparé avec :

Glucose	20 gr.
Peptone	10 gr.
Eau	1000 gr.

On porte le mélange à l'ébullition ; on filtre, répartit en tubes et stérilise à 120° pendant 1/4 d'heure.

La spore germée en goutte pendante est portée sur le milieu de SABOURAUD solidifié (gélose et gélatine à : 20 gr. 0/00).

b) *Identification.* — La détermination de l'espèce a été poursuivie en tenant compte :

1° Des caractères cultureux suivant la méthode de BIORGE [16] ;

2° Des caractères morphologiques ;

3° En contrôlant ces caractères sur une souche type de l'Institut Pasteur, due à l'obligeance de M. MAZÉ.

Préparation des milieux de culture. — Pour nous conformer aux travaux de BIORGE, les milieux ont été préparés selon sa technique [16].

a) MILIEU DE RAULIN. Il se compose de :

Sucre candi	70	gr.
Acide tartrique	4	»
Azotate d'ammonium	4	»
Phosphate d'ammonium	0,6	»
Carbonate de potassium	0,6	»
Sulfate d'ammonium	0,25	»
Sulfate de zinc	0,07	»
Sulfate de fer	0,07	»
Silicate de potassium	0,07	»
Eau	1500	»

A ces éléments dissous à chaud, on ajoute 15 % de gélatine ; après filtration au coton, on répartit en tubes, et on stérilise pendant 1/4 d'heure à 115°. Tous les milieux gélatinés ont reçu la même quantité de gélatine (15 %) et ont été stérilisés à la même température que le RAULIN ; nous n'indiquerons donc pour les milieux que les particularités.

b) MILIEU DE RAULIN-LUTZ [92]. Il diffère du milieu de Raulin par les modifications suivantes :

Carbonate de magnésium	0,13	gr.
Tartrate de potassium	4,36	»

Phosphate neutre de potassium	0,40 gr.
Sulfate de potassium	0,16 »
Azotate d'ammonium	3,65 »

Milieu gélatiné et stérilisé comme le RAULIN.

c) MILIEU DE HAYDUCK (1) ;

Phosphate bipotassique	1 gr.
Sulfate de magnésium	0,32 »
Asparagine	0,8 »
Saccharose	80 »
Eau	1000 »

Milieu gélatiné à 10 % seulement.

d) MOUT DE BIÈRE. — A 300 gr. de malt dépourvu de radicules et concassé, on ajoute 500 cm³ d'eau à 50°.

On verse ensuite de l'eau bouillante jusqu'à ce que la température du mélange ait atteint 70° ; après filtration sur toile on fait subir au milieu une cuisson de 3 heures à feu nu ; on doit éviter l'ébullition. Après une dernière filtration au papier on gélatine le milieu à 10 %.

e) LAIT. — Réparti en tubes sans écrémage préalable. Stérilisation : 1/4 d'heure à 115° ; occasionnellement, on a ajouté du tournesol ou de la phtaléine (quelques gouttes).

f) CAILLÉ. — On coagule le lait à la présure Hansen ; le caillé égoutté est stérilisé à 115° pendant 1/4 d'heure.

g) PAIN. — Cubes de mie de pain rassis de 1 cm³ de côté ; on les imbibe de quelques gouttes d'eau. Stérilisation à 120° pendant 1/4 d'heure.

h) BIÈRE. — Tyndallisée à 60° pendant 1 h. 1/2 ; on répète l'opération 4 jours de suite.

i) BOUILLON. — Dissolution à feu nu de :

Peptone	20 gr.
Saccharose	50 »
Glycérine	30 »
Eau	1000 »

On gélatinise à raison de 10 % ; une partie du bouillon est alcalinisée par une solution à 10 % de carbonate de sodium en présence du tournesol sensible.

j) RIZ. — Cuit à l'eau et stérilisé à 120° pendant 1/4 d'heure.

k) CAROTTES. — POMMES DE TERRE. Stérilisation à 120° pendant 1/4 d'heure.

l) EAU DE PRUNEAUX. — L'eau de macération des pruneaux est filtré au papier et gélatinisé à 15 %. Stérilisation comme à l'ordinaire. La décoction de haricots est gélosée à 3 %.

MÉTHODES D'ENSEMENCEMENT ET DE CULTURE. — Les milieux ensemencés avec du mycélium sporulé sont placés à l'étuve à 24°.

Nous donnerons un résumé extrêmement succinct des cultures

(1) Voir l'indication bibliographique dans BOURGE [16].

dont les teintes ont été notées d'après le code des couleurs de Klincksieck et Valette [82].

Caractères cultureux. — Les cultures débutent par des points opalins (milieu Raulin neutre), blanc grisâtres (HAYDUCK) ou d'aspect gélatineux (bouillon alcalin). Le mycélium est généralement blanc ; on note une légère pigmentation lilas (578A, 78A, 3A) avec le riz, haricot agar, le milieu Sabouraud.

La pigmentation est d'un jaune fugace (221-271) sur le moût de bière, bouillon acide et alcalin. En vieillissant, les mycélium prennent une teinte légèrement crémée. Des gouttelettes incolores ou dorées, plus ou moins fugaces, parsèment le mycélium. Les milieux subissent de profondes modifications ; ils se liquéfient et se colorent souvent de façon très marquée (teinte groseille 81-82 avec bouillon acide ; brunissement du Raulin neutre et du pain). La bière présente une limpidité parfaite ; le lait jaunit ; il est le siège d'une *profonde peptonisation* (même fait constaté par SARTORY [125]). Après *quelques semaines*, le caillé tournesolé s'alcalinise et dégage une forte odeur ammoniacale.

Caractères morphologiques. — Les spores, rondes ou légèrement ovoïdes, ne portent aucune ornementation ; leurs dimensions varient entre $2,4 \mu = 3,3 \mu$ et $3,2 \mu = 4,8 \mu$. Les phialides présentent $3,2 \mu$ sur $9,6 - 12,8 \mu$ de long ; elles sont associées par groupe de deux ou trois ; sur chaque phialide peuvent s'insérer à leur tour 2,3 ou 4 chaquets de spores.

Les caractères cultureux et morphologiques correspondent à ceux du *Penicillium candidum* Roger décrits par BIOURGE [16].

Les minimes différences que nous avons pu noter (Bouillon : 81-82 au lieu de 146 avec la souche de Biourge ; brunissement du Raulin neutre ou acide, pigmentation lilas parfois très accusée de mycélium) se sont montrées plus ou moins inconstantes avec une souche type de *Penicillium candidum* de l'Institut Pasteur ; aussi n'y a-t-il pas lieu d'en tenir compte. Notre souche présente donc les caractères spécifiques du *Penicillium candidum* Rog.

Réaction du milieu et pigmentation du mycélium. — Au moment où les ferments du rouge sont sur le point de paraître sur les fromages, la Moisissure présente parfois une légère coloration rosée. L'acidité des fromages étant alors très réduite il paraissait opportun d'examiner si une réaction particulière déterminait cette pigmentation. A du milieu Sabouraud neutre, nous avons ajouté des quantités croissantes de soude ou d'acide lactique (technique p. 66). La pigmentation lilas est apparue aussi bien en milieu alcalin qu'en milieu acide ; son intensité n'était d'ailleurs pas constante. La réaction du milieu ne joue donc aucun rôle dans l'apparition des pigments du *Penicillium candidum*.

ÉTUDE DE L'OIDIUM

DUCLAUX [34], LANG et DE FREUDENREICH [85], MARCHAL [98], ECKLES [37] ont fixé les caractères de différentes espèces d'*Oidium*.

Après maints passages sur des géloses de Sabouraud acides, nous avons isolé en culture pure une souche d'*Oidium* présentant les caractères suivants :

1^o **Caractères cultureux** (cultures maintenues à 24°). —

a) *Carotte*. — L'*Oidium* forme une épaisse couche irrégulière de couleur terne ; aspect mouillé ; toute la surface est hérissée de poils dont l'extrémité libre est amincie.

b) *Pomme de terre*. — Aspect caractéristique ; colonies blanches sans filaments apparents et d'*aspect farineux*.

c) *Réglisse*. — Culture misérable, traînées blanchâtres.

d) *Raulin acide*. — Aspect spongieux du mycélium ; la liquéfaction ne commence qu'après un mois de culture, à la température ambiante.

e) *Haricot-agar*. — Pousse difficilement.

f) *Lait et petit-lait*. — Epaisse couche gluante, aspect brillant qui envahit rapidement la totalité du liquide.

g) *Caillé*. — Couche gluante, brillante.

h) *Gélose de SABOURAUD*. — Le plus souvent les colonies muriformes sont hérissées en forme d'oursin ; parfois le mycélium jaune terne est sec, peu compact, d'aspect spongieux.

i) *Liquide de SABOURAUD*. — Développement limité ; traînées glaireuses dans la totalité du liquide.

2^o **Caractères morphologiques**. — L'*Oidium* peut se présenter sous différentes formes : le plus souvent ses articles sont rectangulaires, mais il peut également prendre la forme filamenteuse.

Certaines oïdies mesurent 8 μ de long sur 2 μ de large : ce sont les plus petites ; on trouve encore des éléments en forme de tonnelet de 9,6 — 12,8 μ sur 6,4 — 8 μ . Certains articles atteignent 17,6 μ = 4,8 μ . Les filaments sont souvent très longs : leur largeur varie entre 3,1 μ et 6,4 μ .

Ces caractères sont spécifiques à l'*Oidium lactis* Fres. (SACCARDO 122)].

C. — ÉTUDE DE LA BACTÉRIE

Cette bactérie mentionnée p. 28, provient d'une souche de ferments du rouge prélevée au séchoir de l'usine d'Aunay-sur-Odon (Calvados).

Son isolement en culture pure a été long et malaisé du fait de son extrême polymorphisme. Elle présente quelques analogies avec le *Coli* dont BEZANÇON [15] donne la description suivante : « Le *Coli* est un microbe très polymorphe. Il se présente le plus souvent sous l'aspect de bâtonnets de 2 à 6 μ de long à extrémités arrondies, mais on peut dans la même culture trouver des formes courtes, coccobacillaires, ou

de véritables filaments. » AGASSE LAFONT ajoute que le *Coli* présente parfois l'aspect bipolaire.

Dans nos cultures, nous avons en effet trouvé :

1° Des bâtonnets de 3 à 5 μ à bouts arrondis ; ces bacilles sont droits ou légèrement incurvés ;

2° Des formes très courtes présentant des granulations bipolaires ; leur longueur varie entre 0,5 et 1 μ ;

3° Parfois nous avons observé des formes d'involution en navette comme dans le bacille d'Eberth ;

4° Dans les vieilles cultures, les bacilles forment des chaînes de 4 à 5 éléments ; la forme filamenteuse est très rare et ne s'observe que dans certaines symbioses.

Cette bactérie ne présente jamais de spores.

Action des colorants. — Elle se comporte comme le *Coli*. Elle ne prend pas le Gram ; elle se colore bien par les colorants d'aniline (bleu de méthylène, fuchsine, thionine) ; ils se fixent souvent avec plus d'intensité en certains points.

Distinction avec le Coli. — Le *Coli* est mobile, tandis que notre bactérie est immobile ; ses caractères cultureux ne correspondent pas à ceux du *Coli*. Notre bactérie en diffère en plus par son arôme : elle communique aux milieux peptonés un *bouquet caractéristique de Camembert*.

Milieux de culture. — a) BOUILLON. — On dissout à feu modéré :

Extrait de viande Liebig	10 gr.
Peptone	20 »
NaCl	5 »
H ² O	1000 »

On porte à l'autoclave pendant 15 minutes à 120° ; après filtration à chaud sur filtre mouillé on répartit en tubes et stérilise à 115° pendant 1/4 d'heure.

Dans certains tubes on ajoute 2 cm³ d'huile de lin avant la stérilisation quand il s'agit de cultures anaérobies.

b) BOUILLON MALTÉ. — Il a été préparé avec du malt à défaut de touraillon.

Malt	300 gr.
Eau	1000 »

On fait bouillir une demi-heure ; on passe avec expression ; on ajoute :

Peptone	10 gr.
Lactose	20 »

Après filtration, on répartit en ballons de 100 cm³ ; on ajoute 3 gr. de CO² Ca précipité. On stérilise (1/4 d'heure à 120°).

c) LAIT. — Stérilisation à 115° pendant 1/4 d'heure sans aucun écrémage préalable. La préparation des autres milieux a été précédemment indiquée.

Caractères cultureux. — 1. *Pomme de terre* : En quelques jours

la totalité de la surface se recouvre d'un enduit épais, non visqueux, brillant, couleur crémée.

2. *Gélatine en stries* : Pas de liquéfaction ; enduit blanchâtre ou colonies isolées de la grosseur d'une tête d'épingle.

3. *Gélatine en piqure* : Pas de liquéfaction, petites colonies le long de la piqure.

4. *Bouillon* : Se trouble dès le 2^e jour, voile épais, sec, blanchâtre, strié ; dépôt muqueux jaune.

5. *Bouillon gélolé* (à 2 %) : Colonies porcelanées, bords réguliers ; elles brunissent en vieillissant.

6. *Sérum coagulé* de l'Inst. Pasteur : léger enduit blanchâtre dès le 2^e jour ; pas de liquéfaction.

7. *Lait* : En fioles d'Erlenmeyer, il coagule dès le 6^e jour ; en tubes la coagulation est extrêmement lente et ne commence qu'après plus de deux mois de culture ; le sérum est clair. RICHET [114] a montré que la rapidité de la coagulation est liée à l'importance de la surface libre du lait. Le lait prend une teinte légèrement rosée. En présence de Co^3Ca , il ne coagule pas.

Gélose au lait : Enduit porcelané peu abondant.

8. *Bouillon malté* : Se trouble. Arôme de fruits.

9. *Bouillon surmonté d'huile de lin* : Se trouble dès le 2^e jour ; cette bactérie peut donc vivre en milieu privé d'air.

10. *Gélose de VEILLON* : Se développe surtout en surface ; pas colonies en profondeur.

11. *Gélose de SABOURAUD* : Colonies légèrement jaunes, donnant ensuite un enduit épais ; arôme caractéristique de Camembert.

12. *Gélose de SABOURAUD* ayant bruni après plusieurs stérilisations. Le développement est aussi abondant que sur la gélose fraîchement préparée ; le bouquet est très nettement exalté.

Cette bactérie est donc surtout aérobic ; anaérobic facultative elle paraît coaguler le lait par acidification.

Recherche de l'acide lactique. — Des fioles d'ERLENMEYER contenant 100 cm³ de bouillon malté + 3 gr. de Co^3Ca sont placées, après ensemencement, à l'étuve à 37°. On agite plusieurs fois les fioles pendant la journée. Après 48 heures, on porte la culture à l'ébullition et on filtre. En vue de rechercher l'acide lactique, nous avons suivi la technique de MAHEU [94].

a) *Formation d'iodoforme.* — A 1 cm³ de bouillon, on ajoute 1 cm³ de solution iodo-iodurée et un peu de soude ; en présence d'acide lactique il se forme de l'iodoforme. Avec notre culture, l'odeur d'iodoforme est à peine perceptible ; on peut la rendre plus prononcée en opérant de la façon suivante : le bouillon filtré est additionné de SO^4H^2 ; on filtre ; on agite avec une quantité à peu près équivalente d'éther (10 cm³ environ) qui entraîne l'acide lactique ; on décante l'éther

qu'on laisse évaporer à basse température. Sur le résidu, repris par l'eau, on fait la réaction précédente ; l'odeur d'iodoforme était ainsi très nette avec nos cultures. L'iodoforme présente des cristaux hexagonaux que nous avons trouvés dans le liquide examiné au microscope. Comme l'iodoforme peut se former à partir de l'alcool, nous nous sommes assurée à l'aide d'un cristal de fuchsine que l'éther ne contenait pas d'alcool.

b) *Réaction d'UFFELMANN.* — Le réactif d'Uffelmann :

Eau phéniquée à 4/1.000	20 cm ³
Fe ³ Cl ³	1 goutte

vire du bleu au jaune en présence d'acide lactique. La quantité d'acide lactique des cultures était trop faible pour donner cette réaction. La réaction de l'iodoforme est beaucoup plus sensible ; nous pouvons conclure que notre bactérie appartient au groupe des *ferments lactiques*.

Acidification du lait. — Des fioles d'Erlenmeyer de 8 cm. de diamètre ont reçu 10 cm³ de lait mesurés à la pipette à 2 traits. Après stérilisation à 115° pendant 1/4 d'heure et ensemencement, les fioles sont placées à l'étuve à 24°.

L'acidité primitive de 10 cm³ de lait, titrée en présence de phtaléine, équivaut à 1 cm³ 90 de soude décinormale ; elle augmente progressivement ; lorsqu'elle est égale à 5 cm³ 80 de soude N/10 le lait commence à se coaguler (8^e jour) ; la coagulation est totale le 10^e jour lorsque le lait titre 7 cm³ 25 de NaOH, N/10 ; le 24^e jour l'acidité équivaut à 9 cm³ 90 de soude. L'acidification du milieu paraît donc bien déterminer la coagulation.

Résistance à l'acidité. — Du bouillon de Liebig est ajusté aux différents pH acides. Vers le 3^e jour les ferments lactiques se développent sur tous les milieux dont le pH est compris entre 7 et 4,5. Ces bactéries se caractérisent par leur grande résistance à l'acidité.

Etude de la fermentation des sucres. — L'attaque des sucres par les organismes entraîne l'acidification des milieux. Le virage d'in-

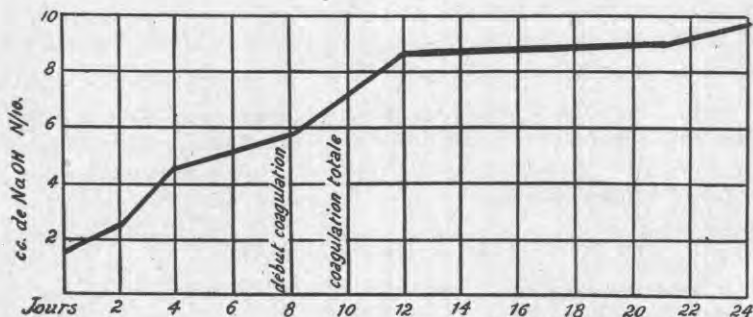


Fig. 2. — Acidification de 10 cm³ de lait placés dans des fioles d'Erlenmeyer

dicateurs colorés (teinture de tournesol, de bromocrésol pourpre) qu'on ajoute aux cultures, traduit la moindre acidification des cultures.

Géloses tournesolées. — Dans 20 cm³ de teinture de tournesol, on dissout 1 gramme de l'un des sucres suivants : saccharose, glucose, lactose, galactose ou maltose. On ajoute 15 cm³ de cette solution à 50 cm³ de bouillon Liebig (formule précédemment). Le milieu est gélosé à 3 %, puis stérilisé pendant 1/4 d'heure à 115°.

Milieux additionnés de pourpre de bromocrésol. — Dans 100 cm³ d'eau, on dissout 2 gr. de peptone et 3 gr. de l'un des sucres mentionnés. On ajoute 2 gouttes de pourpre de bromocrésol par centimètre cube de milieu. On stérilise à 115° pendant 1/4 d'heure. Les cultures sont maintenues à l'étuve réglée à 24°.

Après 48 heures de culture, l'acidification de la gélose galactosée est très marquée. L'acidification est plus légère en milieu glucosé. Ce n'est qu'après plus d'un mois de culture que les autres sucres sont attaqués dans l'ordre suivant : lactose, saccharose, maltose.

L'acidification des milieux liquides additionnés de pourpre de bromocrésol est souvent plus rapide.

On observe :

Après 24 heures :	fermentation du glucose
— 48 heures	— galactose
— 15 jours	— lactose
— 3 mois	— saccharose

Le maltose est à peine attaqué.

Les sucres sont donc attaqués dans l'ordre suivant : glucose, galactose, lactose, saccharose, maltose. La bactérie assimile difficilement les bioses ; l'attaque lente du lactose explique la faible acidification du lait, et sa coagulation tardive.

Etude de la fermentation des substances protéiques. —

1° *Blanc d'œuf* : Des cubes de blanc d'œuf coagulé placés dans des milieux nutritifs, ne semblaient pas attaqués par les ferments lactiques après plusieurs mois de culture. Pour mettre nettement en évidence une faible attaque de l'albumine nous avons coloré le blanc d'œuf à l'aide de carmin en solution.

On agite dans un tube le mélange blanc d'œuf-carmin ; lorsque la masse est uniformément colorée, on plonge le tube dans l'eau bouillante. Après coagulation, on laisse refroidir et casse le tube ; on découpe l'albumine en cubes que l'on place dans des tubes à pomme de terre. On ajoute 10 cm³ de milieu d'UTCHINSKY ainsi préparé :

Glycérine	40	cc.
Lactate d'ammonium	7	grammes
Asparaginate de sodium	3	—
Chlorure de sodium	5	—
Phosphate bipotassique	2	—

Sulfate de magnésium	0,4	grammes
Chlorure de calcium	0,1	—
Eau	1000	—

Au fur et à mesure que l'albumine est dissoute, le milieu se colore avec plus d'intensité.

Dans la même expérience nous avons remplacé le milieu d'UTCHINSKY par de l'eau lactosée à 2 %. Tous les milieux ont été stérilisés à 115° pendant 1/4 d'heure ; au cours de la stérilisation l'albumine a été entièrement hydrolysée dans l'eau lactosée. Elle est restée intacte dans ce même milieu recouvert d'huile de lin, et dans le milieu d'UTCHINSKY.

Les cultures sont maintenues à 24°. Après 10 jours, le milieu d'UTCHINSKY se colore en lilas ; la teinte devient ensuite de plus en plus prononcée. Les ferments lactiques sont doués d'un pouvoir peptique. A titre d'indication, nous mentionnerons que le blanc d'œuf hydrolysé dans l'eau lactosée a été coagulé par les ferments lactiques.

2° *Fibrine*. — Dans un ballon de 500 cm³, on ajoute 250 cm³ de liquide d'UTCHINSKY à 30 gr. de fibrine lavée. On stérilise à 115° pendant 1/4 d'heure. Cultures à 24° pendant 20 jours ; on agite tous les jours. Sur le milieu de culture, on identifie les produits de dégradation de la fibrine :

1° A quelques centimètres cubes de milieu on ajoute quelques gouttes d'acide acétique cristallisable, on porte à l'ébullition et on filtre ; on précipite ainsi les albumines non modifiées ;

2° Au filtrat on ajoute du sulfate d'ammoniaque à saturation. Nous avons obtenu un léger précipité d'albumoses ; dans le filtrat nous avons recherché les peptones par la réaction du biuret (filtrat étendu d'eau + 1 cm³ solution de soude à 10 % + solution de sulfate cuivrique goutte à goutte). Nous n'avons pas obtenu la teinte rose violacé indiquant la présence de peptones.

La fibrine est donc attaquée jusqu'au stade albumose seulement.

3° *Caséine*. — Avant la coagulation, le lait en tube présente une teinte légèrement rosée, c'est à ce moment que nous avons recherché si la caséine était attaquée.

La culture sur lait est bouillie puis additionnée de sel et d'acide acétique cristallisable, à l'ébullition. On filtre au papier.

Au filtrat, on ajoute du réactif de TANRET. On obtient un précipité soluble à chaud, mais qui se reforme par refroidissement (albumoses ou peptone) ; par le sulfate d'ammoniaque à saturation on obtient un précipité qui caractérise les albumoses.

Les ferments lactiques étudiés solubilisent donc le blanc d'œuf, la fibrine et la caséine ; ils coagulent le lait par acidification. La faculté de solubiliser la caséine en milieu acide semble devoir les rattacher au groupe des *ferments acidoprotéolytiques* de GORINI [47]. Ces ferments

lactiques sont de plus anaérobies facultatifs, ils résistent à l'acidité et provoquent l'arôme du Camembert. Leurs propriétés laissent déjà prévoir la part qu'ils prennent dans la maturation du Camembert.

DEUXIÈME PARTIE

INFLUENCE DE QUELQUES FACTEURS SUR LE DÉVELOPPEMENT DES ORGANISMES

Les organismes des Camemberts de choix étant ainsi identifiés, nous examinerons le rôle de différents facteurs sur leur développement. Successivement seront étudiés les rôles : 1^o du sel, 2^o des symbioses, 3^o de la réaction du milieu, 4^o de la température sur la croissance du *Penicillium* de l'*Oidium*, et des ferments lactiques.

ROLE DU SEL

Le chlorure de sodium est d'un emploi courant en laiterie (beurrerie-fromagerie) ; de là sans doute les travaux très nombreux qui s'y rapportent.

1^o En laiterie, on envisage surtout l'action antiseptique du sel :

a) *Sur les ferments lactiques* : nous citerons entre autres ORLA-JENSEN, FETTICK [42], THOM [136], CONN [25], LINDET [89], KLEIN et KIRSTEN :

b) *Sur les Moisissures* : FETTICK [42], GOLDING, MESNIL [104], LANGLAIS [86], MAZÉ [101], GUTSCHY, CLAYTON [23] ;

c) *Sur les Levures* : SPEAKMAN, GEE et LUCK [129] ;

2^o L'action du sel sur les phénomènes biologiques est beaucoup moins connue : nous signalerons :

d) *Action de NaCl sur les diastases* : DUCLAUX [35], HAHN et MICHALIK [65], HARDING et VAN SLYKE [139], VAN DAM [138] ;

e) *Action de NaCl sur les caractères biologiques des organismes* : BACHRACH et CARDOT [5] ;

3^o D'autres travaux relèvent des propriétés chimiques de NaCl :

f) *Action solubilisante* : ORLA-JENSEN [75] ;

g) *Action sur le pH* : VAN DAM [138] ;

Nous examinerons d'abord l'action antiseptique du sel sur le *Penicillium*, l'*Oidium*, et les ferments du rouge ; nous réservons à la fin de notre travail l'étude du sel au point de vue de son action sur les diastases.

Aspect des fromages différemment salés. — Dans les haloirs le seul aspect de la croûte moisie suffit à caractériser le salage (uniforme ou irrégulier, quantité de sel exagérée ou suffisante) ;

1^o **Fromages bien salés** : la croûte mince est formée d'un léger duvet de Moisissure ; au séchoir la croûte se plisse légèrement ; au

creux des sillons ainsi formés les bactéries du rouge apparaissent ; la maturation est normale ; le fromage conserve sa forme ;

2° **Fromages exagérément salés** : le *Penicillium* forme un feutrage épais ; la croûte ne présente aucune « tripure » ; la maturation est longue ou impossible ;

3° **Fromages insuffisamment salés** : la croûte d'abord grasse au toucher ne porte aucune trace de *Penicillium* ; un enduit rougeâtre recouvre ces fromages dont la pâte coule.

Il s'agit pour nous de déterminer les flores correspondant à ces différents salages.

Milieux de culture. — Comme milieu liquide, nous avons choisi le lait stérilisé pendant 1/4 d'heure à 115°.

Les milieux solides comprenaient :

1° De la *gélose* de SABOURAUD dont nous avons précédemment donné la formule. Néanmoins la préparation de ces milieux salés est très délicate. Pour qu'ils se prennent bien en masse, nous avons dû supprimer la gélatine et géloser à 3%. Cependant ces milieux demeurent mous au-dessus de 10 % de sel, et une deuxième stérilisation ou un simple chauffage au bain-marie détermine l'hydrolyse des géloses même faiblement salées ;

2° Du *caillé* a été préparé en coagulant par la présure Hansen le lait chauffé à 28°. Le caillé découpé a été égoutté sur un filtre de Buchner recouvert d'un papier filtre. On a activé l'égouttage en adaptant ce filtre à une fiole de Kitasato reliée elle-même à une trompe à eau. L'égouttage était arrêté lorsqu'on avait recueilli 650 cm³ de petit lait par litre de lait caillé ;

3° En Normandie, nous avons étudié la composition de la flore des fromages blancs, non stériles et salés à des pourcentages variables.

Doses de sel. — Les différents milieux ont reçu : 0-0,5-1-2-3-4-6-8-10-12-14-16-18-20-30 % de sel. On ajoute directement le sel au lait et à la gélose de SABOURAUD. Le caillé trituré avec le sel est stérilisé en boîtes de Pétri à 115° pendant 1/4 d'heure. Tous les milieux ont été stérilisés d'une façon identique.

Conditions de culture. — Après ensemencement très large avec du mycélium sporulé, ou une anse de bactéries, les milieux sont portés à l'étuve réglée à 24°. (A suivre.)