



HAL
open science

THÉORIE DE LA MATURATION DES FROMAGES DURS

S. Orla-Jensen

► **To cite this version:**

S. Orla-Jensen. THÉORIE DE LA MATURATION DES FROMAGES DURS. *Le Lait*, 1940, 20 (191_192), pp.2-15. hal-00927816

HAL Id: hal-00927816

<https://hal.science/hal-00927816>

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.

nous écrire que la revue Le Lait était devenue indispensable. Cette appréciation suffirait à elle seule à fixer notre ligne de conduite, et, grâce à nos très dévoués Collaborateurs, nous voulons que notre Revue reste, tout simplement, au service de l'Industrie laitière. Il importe justement de franchir ce moment difficile pour que, la Paix étant revenue, le Savant, l'Industriel, le Praticien, puissent reprendre sans retard leur labeur fécond.

Le Lait entre, ce mois-ci, dans sa vingtième année ; cette Revue est restée et restera digne du Maître disparu, son Fondateur et son Animateur, le Professeur Ch. PORCHER. G. THIEULIN.

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

THÉORIE DE LA MATURATION DES FROMAGES DURS (2)

par

S. ORLA-JENSEN

Les différentes régions laitières avaient, autrefois, leurs marques particulières de fromages, et on mettait en doute la possibilité de les fabriquer dans d'autres régions, car on pensait que les conditions locales, telles le climat et l'alimentation du bétail, jouaient un rôle très important dans la question de qualité du fromage. Même vers la fin du siècle dernier, il n'était pas rare d'entendre affirmer que l'arôme du fromage d'Emmental provenait de certaines plantes alpestres.

Pourtant, quiconque a étudié les fermes laitières de Suisse sait que dans les Alpes il n'y a que le jeune bétail qui soit au pâturage, tandis que les vaches, fournissant le lait servant à la préparation du fromage d'Emmental, restent dans les vallées et sont alimentées à l'étable pendant tout l'été avec des mélanges d'herbes ordinaires ou de la luzerne. Ce n'est qu'en octobre, lorsque l'herbe n'est plus suffisamment haute pour être fauchée, que les vaches sont mises au pâturage. Elles souffrent alors du froid après avoir subi la chaleur dans leur étable pendant les mois d'été. L'alimentation à l'étable est très économique, mais n'est bonne ni pour les vaches, ni pour le lait, car, dans ces conditions, ce dernier est pauvre en vitamine D. Dans le Nord de l'Italie, on pratique aussi l'alimentation à l'étable. Dans la plaine du Pô, cinq à six coupes de luzerne peuvent être récoltées pendant l'été. L'alimentation ayant une influence considérable sur la composition de la

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

(2) Conférence faite à l'Académie danoise des Sciences techniques, le 18 avril 1939.

Le Lait adresse à son très dévoué collaborateur, Monsieur C. WOLF, ses vifs remerciements pour l'heureuse traduction qu'il a bien voulu effectuer.

matière grasse du lait, et la matière sèche du fromage préparé avec du lait complet se composant de la matière grasse du lait, il est, par conséquent, certain que l'alimentation a une influence sur la qualité du fromage ; mais quand le fourrage est frais et bien conservé, de telle sorte que la digestion de la vache n'en soit pas dérangée, elle n'a pas du tout l'influence qu'on lui accordait précédemment (1).

La bactériologie laitière a prouvé que les traits caractéristiques des diverses marques de fromages proviennent en premier lieu de certains microorganismes, et, comme on a pu isoler et étudier ces organismes, on a pu fabriquer toutes les marques possibles de fromages dans n'importe quelle région laitière. C'est, toutefois, loin d'être facile, car de très petites modifications de la technique sont susceptibles de changer les caractéristiques du fromage.

On sait que ce fut E. DUCLAUX, le premier directeur de l'Institut Pasteur, qui commença, vers 1880, les premières recherches scientifiques concernant la maturation du fromage. Comme la caractéristique la plus importante de la maturation du fromage est une transformation partielle de la caséine insoluble et sans goût en produits solubles et savoureux, il en conclut que les microorganismes causant cette transformation doivent être capables de transformer la caséine de cette façon. Il réussit facilement — trop facilement — à trouver de telles bactéries dans le fromage simplement en plaçant de petits morceaux de fromage dans du bouillon (exempt de sucre), permettant ainsi aux bactéries en bâtonnets de se développer ; celles-ciensemencées dans du lait le coagulaient sans production perceptible d'acide, puis ensuite peptonisaient le coagulum, produisant une odeur rappelant celle du très vieux fromage. DUCLAUX appela ces bactéries Tyrothrix, c'est-à-dire « fils de fromage », et tous ses contemporains pensèrent que le problème était résolu. Cependant, des études ultérieures ont prouvé que les Tyrothrix étaient tout simplement des bactéries putréfiantes sporogènes, dont DUCLAUX lui-même a décrit les espèces aérobies et anaérobies.

Le bactériologue suisse V. FREUDENREICH fut le premier à exprimer des doutes sur l'exactitude de la théorie des Tyrothrix. Des plus importants de ses ouvrages publiés vers 1890, il résulte que, comparativement aux bactéries lactiques, il existe extrêmement peu de Tyrothrix dans le fromage, et que ceux-ci, mêmeensemencés en grande quantité, sont incapables de se développer dans le caillé frais en raison de la réaction acide de ce dernier. Ce n'est que quand le lait destiné à la fabrication du fromage a été soumis auparavant

(1) ORLA-JENSEN. La composition du lait est-elle influencée par l'alimentation ? *Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz*, 1905, p. 534-559. (*Annuaire Agricole de la Suisse.*)

à une pasteurisation à haute température, de telle sorte que toutes les bactéries lactiques soient détruites, qu'un développement des bactéries *Tyrothrix* peut avoir lieu, formant des taches de putréfaction dans le fromage, ce qui, bien entendu, n'est pas souhaitable. D'après notre interprétation actuelle de la maturation des fromages durs, cette opération doit plutôt être considérée comme un phénomène de digestion qu'un phénomène de putréfaction. Il n'y a que si le traitement de la croûte du fromage n'a pas été suffisant, que cette dernière peut commencer à se putréfier : l'odeur d'ammoniac que l'on sent dans les caves où est emmagasiné du vieux fromage provient uniquement de la surface du fromage.

Autant la théorie des *Tyrothrix* avait été facile à établir, autant il fut difficile de s'en débarrasser : elle a, du reste, encore ses adeptes. Au début du présent siècle, un troisième pionnier de la bactériologie laitière, l'Autrichien ADAMETZ, isola un bâtonnet sporogène, produisant une odeur douceâtre semblable à celle du fromage d'Emmental, et c'est pourquoi ADAMETZ estima que cette bactérie jouait le rôle le plus important dans la maturation du fromage d'Emmental. Elle fut dénommée *Bacillus nobilis*. D'après les études de FREUDENREICH, cette « bactérie noble » ne se comportait pas autrement que les autres *Tyrothrix*, et c'est pourquoi elle fut rapidement rejetée dans le prolétariat des bactéries putréfiantes.

V. FREUDENREICH, homme de loi et diplomate, avait appris seul la chimie et la biologie, ce qui ne l'empêcha pas d'être le premier de ceux qui ont dirigé la compréhension du phénomène de la maturation du fromage dans la bonne voie. C'était aussi un grand sportif, et ses premières études bactériologiques consistèrent à étudier la teneur en germes de l'air au sommet des plus hautes montagnes des Alpes. Petit à petit son intérêt se concentra sur la maturation du fromage d'Emmental ; il effectua des essais, tant qualitatifs que quantitatifs, avec des fromages d'âges différents et trouva presque exclusivement, dans tous les cas, des bactéries lactiques. Les principales étaient des espèces en forme de bâtonnets. Ces bactéries lactiques en forme de bâtonnets furent, après des études ayant duré plusieurs années, entièrement décrites et classées par l'auteur, et ce sont ces études qui m'amènèrent à collaborer avec V. FREUDENREICH.

On sait communément qu'autrefois les laiteries produisaient leur propre présure avec des estomacs de veaux et du sérum. On y ajoutait souvent du vinaigre, des essences ou des épices, et on attribuait à ces suppléments un effet mystérieux. La « présure naturelle » préparée de cette façon, donnait souvent directement au fromage un goût prononcé (goût de présure) ou, indirectement,

par l'addition de bactéries nuisibles. La force de la présure variait aussi de temps en temps. C'est pourquoi un grand progrès fut atteint quand, en 1874, le chimiste danois Christian HANSEN réussit à préparer un extrait de présure pur, durable et standardisé. La « présure naturelle » fut graduellement remplacée pour la fabrication de la plupart des variétés de fromage par la présure fabriquée industriellement. Pourtant, on continua à utiliser la « présure naturelle » dans la fabrication de l'Emmental et seulement pour cette fabrication, car on prétendait que la présure fabriquée industriellement ne donnait pas de bons résultats. Ceci me surprit, et c'est pourquoi, lors d'études que je faisais en Bavière en 1897, ayant eu l'occasion d'examiner la « présure naturelle » utilisée sur place pour le fromage d'Emmental, je trouvai qu'elle contenait des millions de bactéries lactiques en bâtonnets qui étaient, je le supposai de suite, la même espèce que celle trouvée par FREUDENREICH dans le fromage d'Emmental. Il était, par conséquent, normal de supposer que l'avantage de la « présure naturelle » consistait dans un ensemencement du lait destiné au fromage avec les bactéries nécessaires à la maturation du fromage d'Emmental.

Très peu de temps après, je rencontrai FREUDENREICH et lui exposai ma théorie. Il me proposa d'étudier la question avec lui, et comme mon hypothèse s'affirmait exacte (2), il en résulta une collaboration étroite entre FREUDENREICH et moi. Devenu plus tard directeur de la Station suisse d'Essais de laiterie nouvellement créée, j'eus ainsi la meilleure occasion d'étudier le problème de la maturation du fromage et d'autres problèmes importants de la laiterie.

Comme conséquence des études de FREUDENREICH, on pouvait supposer que les bactéries lactiques, et surtout les variétés en forme de bâtonnets, jouaient le rôle principal dans la fermentation du fromage d'Emmental ; mais à l'encontre de cette interprétation venait l'objection que ces bactéries étaient manifestement incapables de digérer la caséine. C'est pourquoi, en 1897, lorsque deux expérimentateurs américains, BABCOCK et RUSSELL, démontrèrent que le lait lui-même contient une enzyme protéolytique, la galactase, on en conclut naturellement que cette enzyme jouait le rôle principal dans la maturation du fromage. Les expériences que nous effectuâmes prouvèrent toutefois que le degré d'acidité du caillé frais, qui était trop élevé pour les bactéries Tyrothrix, l'était aussi pour l'effet de la galactase. En outre, nous réussîmes à fabriquer des fromages normaux avec du lait chauffé à une température si

(2) De l'influence de la présure naturelle sur la maturation du fromage d'Emmental. *Zentralblatt f. Bakteriologie*, 2^e partie, 1897, vol. III, p. 546-553.

élevée que la galactase était détruite ; c'est pourquoi cette enzyme ne doit pas jouer un très grand rôle dans la fermentation du fromage.

Cependant, je réussissais à prouver que la véritable substance de la présure, la chymosine, possédait des propriétés protéolytiques, celles-ci étant augmentées par l'action des bactéries lactiques ; c'est pourquoi la chymosine joue sans aucun doute un certain rôle dans la maturation du fromage. Cette idée me vint à la lecture d'observations faites par des praticiens américains qui avaient constaté que la maturation du fromage était accélérée par l'augmentation de la proportion de présure employée. Je préparai alors de la présure de fromage exempte de germes par filtration à travers un filtre Chamberland, et en ajoutai un peu à du lait stérilisé, ce qui eut pour résultat qu'une partie de la caséine fut dissoute. La décomposition, montrée dans le tableau ci-dessous, était plus radicale quand des bactéries lactiques étaient ajoutées. Les chiffres du tableau proviennent de ma thèse de doctorat de 1904.

A.S. signifie : azote soluble (qui n'est pas précipité par l'ébullition avec des acides faibles) et A.A. signifie : azote des amino-acides (qui ne peut pas être précipité par l'acide phosphotungstique). Comme il ressort du tableau, la présure seule ne joue de rôle dans aucun des phénomènes de décomposition totale ; aussi, avec le peu de connaissance qu'on avait à ce moment des enzymes protéolytiques, je supposai que l'effet protéolytique de la présure était dû à un mélange avec de la pepsine. Mais en fabriquant des fromages avec addition de pepsine pure, je constatai que cette addition n'accélérait pas la maturation. J'en tirai alors la conclusion, qui s'est révélée correcte ultérieurement, que la chymosine est elle-même une enzyme protéolytique, qu'on ne trouve que dans les estomacs des jeunes ruminants et qui a l'effet le plus considérable aux environs du degré d'acidité trouvé dans le caillé frais. Ce dernier ne devient toutefois pas suffisamment acide pour permettre à la pepsine de jouer un rôle notable (3).

	Lait avec craie après 1 mois et demi à 35° C.	
	Pourcentage d'azote total A. S.	A. A.
<i>Streptococcus lactis</i>	2,51	2,02
Présure	11,75	0,00
<i>Sc. lactis</i> et présure	60,56	5,32
<i>Thermobacterium helveticum</i>	36,12	34,60
<i>Streptobacterium casei</i>	24,70	26,30
<i>Tetracoccus liquefaciens</i>	75,70	12,12
<i>Streptococcus liquefaciens</i>	82,20	33,99

(3) Etat actuel de la question de la maturation du fromage. Conférence faite à la cérémonie inaugurale du Congrès international de Laiterie de Stockholm, 1911. *Zentralblatt f. Bakteriologie*, 2^e partie, 1912, vol. XXXII, p. 202-209.

Ce qui précède montre que l'action des bactéries lactiques dans la maturation du fromage consiste partiellement à favoriser l'effet protéolytique de la chymosine. Précédemment, FREUDENREICH et moi-même avons montré que beaucoup de variétés de bactéries lactiques, et spécialement les espèces en forme de bâtonnets qu'on trouve dans le fromage, attaquent elles-mêmes la caséine, si le lait utilisé est, avant stérilisation, additionné de craie et si la culture est agitée régulièrement pendant la fermentation de telle sorte que l'acidité produite soit neutralisée. Comme le montre le tableau, *Thermo-bacterium helveticum* et *Streptobacterium casei* produisent, dans ce cas, non seulement de l'A.S., mais dissocient également les substances dissoutes contenant de l'azote en acides monoaminés.

A ce moment, la définition de l'acidité n'était pas aussi claire qu'elle l'est actuellement grâce aux travaux de S. P. L. SOERENSEN. La mesure du pH fut rendue plus facile lorsque BILMANN eut imaginé la méthode à l'hydroquinone, et nous pûmes, par ce moyen, évaluer les chiffres du pH pendant les expériences ci-dessus rapportées. Le lait, additionné de craie (c'est-à-dire quand on n'ajoute que de la présure), a toujours un pH d'environ 6,6, et une culture de bactéries lactiques dans du lait régulièrement agité avec de la craie se fixe elle-même à pH 5,3.

Quoique, dans la préparation du fromage, de la craie ne soit pas ajoutée au lait, les différentes manipulations telles que le découpage, l'agitation, l'échaudage et finalement le pressage tendent toutes à enlever plus ou moins de sérum, et par conséquent de lactose, substance-mère de l'acide lactique. On a toujours pensé que si les bactéries lactiques sont susceptibles de produire un effet dans les fromages durs, la raison doit en être attribuée au fait que la plus grande partie de l'acidité produite est neutralisée par la chaux combinée à la caséine et aux phosphates. Les nombreuses déterminations de pH du fromage effectuées depuis que SÖNCKE KNUDSEN a élaboré une méthode facile (4) ont donné ce résultat surprenant que le pH le plus bas du fromage dur, c'est-à-dire le pH ascendant quand tout le sucre est fermenté, se fixe généralement lui-même à environ 5,3, exactement comme les cultures de lait avec craie. En conséquence, les protéolytiques, dont la présence a été prouvée dans le lait, doivent se transférer dans le fromage, avec la différence causée par la teneur moindre en eau et la température plus basse.

D'après les recherches de VIRTANEN et de TARNANEN, le pH

(4) De la détermination des ions H dans le fromage. *Den Kgl. Veterinaerog Landbohøjskoles Aarskrift*, 1922 (Rapport annuel de l'École supérieure Vétérinaire et Agricole du Danemark, 1922).

optimum pour les enzymes protéolytiques des bactéries lactiques est d'environ 5,7-6 (5) ; c'est pourquoi on obtiendra une maturation plus rapide des fromages si la maturation débute à un pH plus élevé que 5,3. Nous avons essayé d'y parvenir en ajoutant de la craie ou du phosphate tricalcique au lait destiné à la fabrication du fromage, ou en rinçant le caillé, mais nous ne pouvons pas recommander une telle méthode, car si la maturation débute à un pH plus élevé que 5,3, ce pH montera trop rapidement à 6, en raison de la digestion de la caséine, et puis il y a le risque que les bactéries putréfiantes (*Tyrothrix*), qui existent toujours dans le caillé, en grand ou en petit nombre, commencent à se développer, donnant ainsi un mauvais goût au fromage. Dans le fromage, comme dans l'ensilage, c'est l'acidité qui retarde la putréfaction, et DORNER a trouvé que le pH de début optimum pour le fromage d'Emmental est situé à 5,16-5,25, c'est-à-dire légèrement au-dessous de 5,3 (6).

La marge pour le pH dans le fromage dur n'est en fait pas très grande. Si au départ le pH est 5, la maturation va trop lentement et la surface verticale du fromage ne sera pas arrondie. Toutefois, dans le fromage absolument frais, ce fait n'a aucun rapport avec la maturation elle-même, mais provient d'une certaine proportion entre l'acidité et le salage, que L. L. VAN SLYKE fut le premier à montrer. J'ai expliqué en détail par ailleurs les phénomènes compliqués de solubilité, qui ont lieu dans ces conditions (7). M^{me} A. D. ORLA-JENSEN a montré qu'il existe des conditions exactement similaires pour le gluten dans la farine de blé. La plasticité de la pâte du pain, ainsi que celle du caillé, provient donc autant de la teneur en sel que de la concentration en ions H (8). Il est intéressant de noter que l'addition de sel, utilisée depuis les temps les plus reculés pour le pain et le fromage, n'est pas seulement une addition destinée à améliorer la saveur, mais qu'elle produit également une amélioration de la pâte.

Si la concentration en ions H est encore diminuée, à 4,7 par exemple, la chymosine produit encore de l'effet, mais les enzymes des bactéries lactiques cessent pratiquement d'agir, et les fromages ne peuvent plus, par conséquent, mûrir uniformément dans toute leur masse, ce qui est la caractéristique des fromages durs. La

(5) VIRTANEN. Enzymes protéolytiques des bactéries lactiques. Congrès international de Laiterie de Copenhague, 1931.

(6) Du rapport entre la concentration en ions H du fromage jeune et ses qualités ultérieures. *Livre jubilaire du D^r BURRI*, 1937.

(7) Recherches chimiques sur la coagulation du lait et sur la solubilité du coagulum dans l'eau salée. *H. S. Zeitschrift für physiologische Chemie*, 1914, p. 283-306.

(8) Importance du sel pour la cuisson du pain (Communication du Laboratoire des Farines). *Nordisk Handelsblad for Kemisk Industri*, 1922.

maturation doit, par conséquent, débiter à la surface, et pénétrer graduellement à l'intérieur par le moyen de microorganismes se développant à la surface du fromage. Dans ces microorganismes peuvent se trouver soit des moisissures, soit des bactéries productrices d'ammoniaque dans le cas des fromages mous.

Les enzymes protéolytiques des bactéries lactiques sont des endoenzymes nettement caractérisées, et celles-ci ne peuvent pas être libérées aussi longtemps que les bactéries sont en vie. C'est pourquoi la maturation du fromage dur n'est pas un phénomène de fermentation dans le sens propre du mot, car un tel phénomène est produit par l'action de microorganismes vivants. On doit la comprendre comme un phénomène purement enzymatique, dont la première phase est l'action de la chymosine, aidée par l'acide lactique produit, et dont la deuxième phase est représentée par les endoenzymes des bactéries lactiques mortes.

Il est facile de s'assurer par comptage que les bactéries actives de la maturation meurent avant la maturation du fromage. Alors qu'il peut y en avoir plus d'un milliard par gramme dans le caillé frais, il n'y en a pas plus de quelques millions dans la masse arrivée à maturité. Les bactéries mortes sont autolysées, et ce n'est qu'à ce moment que les endoenzymes sont susceptibles de digérer le milieu environnant.

L'abondance des enzymes dans le caillé est visible quand celui-ci est râpé avec de l'eau pour déterminer les substances contenant de l'azote soluble. Même si on ajoute de fortes quantités d'antiseptiques, la proportion de A.S. et de A.A. augmentera d'autant plus qu'on extraira, et plus la température d'extraction sera élevée (pas au-dessus de 40° C.). En faisant varier le degré d'acidité, et les antiseptiques ajoutés, j'ai prouvé qu'il y avait de la galactase, de la chymosine et des enzymes de bactéries en quantités différentes dans toutes les sortes de fromages (9). Toutefois, avec le fromage d'Emmental, il ne fut pas possible de prouver la présence de chymosine, parce que la chymosine est altérée par l'échaudage intense auquel le caillé est soumis dans ce cas. La fermentation du fromage d'Emmental est, par conséquent, effectuée entièrement par les enzymes protéolytiques des bactéries lactiques (peut-être en rapport avec un petit effet de la galactase).

Sur ma proposition, la méthode habituelle pour la détermination des substances contenant de l'azote dans le fromage consiste dans l'extraction de la masse finement râpée pendant 15 heures à la température ordinaire avant filtration. Pour éviter complètement l'effet des enzymes, il pourrait sembler plus sage de faire bouillir

(9) Etudes sur les enzymes du fromage. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 2^e partie, 1900, VI, p. 734-735.

le tout de suite, mais ceci n'est pas recommandable surtout dans le cas des fromages mous, car une grande partie des matières solubles se coagulerait lors de l'ébullition. Il n'est pas meilleur, ainsi que l'ont suggéré BARTHEL, HAGLUND et SANDBERG (10), de produire par pression du fromage un jus comme on en obtient de la levure, car le fromage arrivé à maturité ne contient pas suffisamment d'eau pour dissoudre les substances solubles du fromage, ce dernier contenant même quelquefois des amino-acides cristallisés. Il est intéressant de noter que le jus pressé, même provenant de vieux fromage, coagule le lait, ce qui prouve que la présure du fromage — qui est probablement combinée au caillé — passe dans le fromage en quantité assez considérable et n'est pas altérée. Ces derniers expérimentateurs ont aussi montré que le sel entrave le développement des bactéries lactiques dans le fromage. Cependant, d'après nos toutes dernières recherches, il ne semble pas gêner l'effet de la chymosine, car des fromages contenant une proportion de présure double de la normale coulent complètement si le caillé est salé avant le moulage, mais pas, si les fromages sont salés dans la cuve. La croûte dure qui entoure le fromage quand on le sale en cuve empêche le coulage. Quand des fromages préparés avec la dose ordinaire ou une double dose de présure deviennent vieux (environ cinq mois), il n'y a pas, constatation assez curieuse, de différence sensible dans leur teneur en A.S., de sorte que, sans aucun doute, la chymosine reste intacte ; mais on doit supposer que cette dernière ne fait preuve d'une activité sensible qu'au début. Dans le jus de presse du fromage d'Emmental, BARTHEL et ses collaborateurs n'ont pu trouver de présure, ce qui confirme mes études antérieures.

Etudions maintenant de plus près les différentes bactéries du fromage. *Thermobacterium helveticum* joue le rôle principal dans la maturation du fromage d'Emmental. Comme les autres thermobactéries, elle forme de longs bâtonnets et est très difficile en ce qui concerne son alimentation azotée. C'est un producteur d'acide très vigoureux formant exclusivement de l'acide lactique inactif. Elle se développe rapidement dans le lait et a, comme le tableau le montre, une grande puissance pour dissocier la caséine. Les thermobactéries sont ainsi dénommées parce qu'elles ont besoin de chaleur (plus que la température habituelle d'une chambre) pour pouvoir se développer. Les bactéries se développent le mieux à 37-40° C., et la « présure naturelle » est aussi additionnée à cette température. Comme il a déjà été mentionné, les bactéries de la maturation sont

(10) Etude du jus obtenu par pressage du fromage pour la détermination analytique du degré de maturation du fromage. Communication n° 361 de l'Institut central de Recherches agricoles, Stockholm, 1929.

ajoutées au fromage d'Emmental par la « présure naturelle », et un développement ultérieur de ces bactéries thermophiles est obtenu en échaudant le caillé à 53-54° C., et en extrayant le caillé du sérum chaud d'une seule masse de telle sorte qu'il soit chaud quand il est mis sous presse. De plus, comme le poids d'un fromage d'Emmental est de 75-100 kilogrammes, il se refroidit si lentement que même le second jour sous presse il a une température intérieure de 35° C., de sorte que les thermobactéries ont le temps de se multiplier considérablement. En même temps, certains streptocoques thermophiles, *Streptococcus thermophilus*, se développent. Ils agissent pour donner au fromage un degré d'acidité élevé favorable, mais ils ne prennent pas part autrement à la maturation, car ils n'attaquent pas la caséine.

La méthode ci-dessus décrite a été graduellement améliorée par l'expérience pratique bien avant que nous ne connaissions les bactéries, et il est intéressant de noter que cette méthode est si parfaite, qu'on ne peut l'améliorer que très peu, malgré les connaissances théoriques que nous avons acquises sur la question. La seule amélioration qui puisse être apportée, est d'ajouter la « présure naturelle » avec des cultures pures, parce que les estomacs de veaux ne contiennent pas toujours les bonnes bactéries en quantité suffisante. Il est même préférable d'abandonner tout à fait la « présure naturelle » (les estomacs contiennent quelquefois des bactéries nuisibles), et d'utiliser de la présure pure, fabriquée industriellement, combinée à des cultures pures de *Thermobacterium helveticum*, ce qui est la méthode habituellement employée en Scandinavie. On peut aussi ajouter au lait s'acidifiant lentement un peu de *Streptococcus thermophilus*.

Une bactérie encore plus importante que *Thermobacterium helveticum* pour la maturation est *Streptobacterium casei*, quoique son pouvoir de dissocier la caséine n'égale pas celui du premier mentionné, ainsi que le montre le tableau. Comme l'indique son nom, cette bactérie (surtout quand elle a été cultivée sur bouillon) forme des chaînes d'anneaux courts et acquiert ainsi une certaine ressemblance avec les streptocoques, et, comme ceux-ci, a des exigences moindres que celles des thermobactéries en ce qui concerne les matières azotées (11). Elle forme généralement un mélange d'acide lactique inactif et dextrogyre. Même à la température optimum de 30° C., elle se développe lentement dans le lait, mais, en revanche, est susceptible de se développer à une température aussi basse que 10° C., et, comme elle est capable de se développer après la fermentation du sucre, elle se développe graduellement

(11) ORLA-JENSEN, OTTO et AGNETE ENOG-KJÆR. Exigences en vitamine et en azote des bactéries lactiques. Comptes rendus de la Société scientifique, 1936.

dans toutes les sortes de fromages, qu'ils soient chauds ou non, quand on les met sous presse. Elle semble aussi être une bactérie très thermotolérante, car elle se développe dans le fromage préparé avec du lait pasteurisé à basse température. Elle est donc ainsi une bactérie universelle du fromage.

Il est assez curieux de constater que l'ensemencement du lait destiné à la fabrication du fromage avec des streptobactéries n'est pas encore utilisé. Toutefois, l'ensemencement avec des cultures (starters) utilisées pour l'acidification de la crème en vue de la fabrication du beurre est d'un usage commun. Les streptocoques contenus dans la culture donnent au caillé une concentration en ions H favorable à la maturation. Les bactéries périssent rapidement, et comme de nombreux streptocoques contiennent aussi des endoenzymes protéolytiques, quoique bien moins que les formes en bâtonnets ci-dessus mentionnées, elles peuvent aussi jouer directement un rôle dans la maturation du fromage. BARTHEL accorde même à ces bactéries un rôle important dans ce phénomène (12). Les examens bactériologiques prouvent, cependant, que les streptocoques ont, après quelques semaines, été remplacés en grande partie par des streptobactéries, et celles-ci, étant plus abondamment fournies en enzymes protéolytiques, doivent être considérées comme étant les bactéries de la maturation les plus importantes dans les fromages ne contenant pas de thermobactéries. Je propose d'appeler les fromages fortement échaudés des « thermofromages » et, réciproquement, le reste des fromages durs des « streptofromages », dénomination qui est correcte, que ce soient les streptocoques ou les streptobactéries qui jouent le rôle principal dans la maturation.

Dans mon ouvrage : « Les Bactéries lactiques », les capacités protéolytiques de toutes les espèces décrites ont été examinées, non seulement dans le lait avec craie, mais aussi directement dans le fromage (13), et il faut ajouter qu'outre les bactéries déjà mentionnées, la fermentation peut être influencée favorablement par *Tetracoccus liquefaciens*, tandis que *Streptococcus liquefaciens* donne aux fromages un goût amer et les fait se liquéfier. Comme le tableau le montre, ces bactéries ne font se dissocier qu'une partie relativement minime d'A.S. en A.A.

Tandis que les deux phases de la fermentation des fromages durs mentionnées jusqu'à présent sont purement enzymatiques, des phénomènes de fermentation proprement dite ont également lieu, et parmi ceux-ci se place la formation normale des trous

(12) Communications de l'Institut central de Recherches agricoles de la Suède, n° 97, 1914 ; n° 307, 1926.

(13) Comptes rendus de la Société scientifique, 1919, p. 110-111.

(yeux), auxquels les marchands de fromage attachent une si grande importance, spécialement dans le cas du fromage d'Emmental. Pour favoriser la formation des trous, les fromages d'Emmental sont, quand ils ont quelques semaines d'âge, placés en « cave chaude », à une température de 22-26° C., et les « yeux » sont formés en environ trois à quatre semaines. Avant que je ne commence mes études sur la formation normale des « yeux », j'ai établi que le lactose dans le fromage d'Emmental a disparu après deux ou trois jours. Les gaz provoquant la formation des trous ne pouvant donc provenir de la fermentation du lactose, la conclusion qui vint naturellement à mon esprit fut qu'ils se développaient aux dépens du lactate de calcium formé par la fermentation de l'acide lactique. Un examen plus complet de la question ayant montré que de l'acide propionique et de l'acide acétique étaient formés dans la proportion de 2 à 1, en même temps que les « yeux », j'en conclus que la fermentation produisant le développement des « yeux » était la suivante :



3 d'acide lactique = 2 d'acide propionique + 1 d'acide acétique + eau + acide carbonique

et que les « yeux » étaient des bulles d'acide carbonique ne pouvant pas s'échapper de la masse compacte du fromage (14). CLARK a montré ultérieurement que le gaz des « yeux » consiste réellement en acide carbonique pur. A l'appui de mon hypothèse, je trouvai, dans les archives scientifiques, que FITZ avait déjà montré en 1820 que le lactate de calcium peut, non seulement être l'objet d'une fermentation butyrique, comme PASTEUR l'avait montré, mais aussi d'une fermentation propionique (15). Toutefois, personne ne croyait à cette théorie et DUCLAUX, qui avait étudié les acides volatils du fromage avant moi, et avait établi pour cette étude une excellente méthode, trouva seulement de l'acide butyrique et de l'acide acétique. J'apportai un complément à la méthode de DUCLAUX en préparant et en analysant les sels d'argent des acides volatils, réussissant ainsi à montrer que ce que DUCLAUX avait pris pour de l'acide butyrique était réellement de l'acide propionique. Normalement, tout l'acide butyrique qu'on trouve dans les fromages durs provient de l'hydrolyse de la matière grasse, hydrolyse qui est extrêmement lente dans les sortes grasses de fromages durs.

Ayant ainsi prouvé que la formation normale des trous dans le fromage provient d'une fermentation propionique, tout ce qui nous manquait pour une démonstration complète était de trouver

(14) Etude des acides gras volatils du fromage et contribution à la biologie de ferments du fromage. *Zentralblatt f. Bakteriologie*, 2^e partie, XIII, 1904.

(15) Comptes rendus de la Société allemande de Chimie, vol. XI-XIV.

la bactérie cause de cette fermentation. En ensemençant du fromage dans du bouillon contenant du lactate de calcium au lieu de sucre, et après plusieurs ensemencements successifs, nous réussîmes, FREUDENREICH et moi, à augmenter le nombre puis à isoler différentes espèces de bactéries propioniques, tant coques que bâtonnets (16). Ces bactéries ensemencées dans du fromage formèrent des cavités. Il ne faut pas en semencer beaucoup, autrement la formation des « yeux » serait excessive. On pratique maintenant, dans beaucoup de pays, l'ensemencement du lait destiné à la fabrication du fromage avec des bactéries propioniques.

La formation des « yeux » ne représente pas le seul rôle joué par les bactéries propioniques. Même si les bactéries n'attaquent pas directement la caséine, elles sont tout à fait susceptibles de décomposer les peptones, et elles contribuent certainement à donner aux vieux fromages le goût douceâtre et piquant qu'ils ont. De toutes façons, nous avons trouvé ces bactéries en grandes quantités dans de tels fromages de diverses sortes. Toutefois, les bactéries trouvées par nous étaient d'autres espèces que celles formant les « yeux », ces dernières étant plutôt de forme sphérique, tandis que les premières étaient de gros bâtonnets irréguliers. De même, les bêtabactéries classées par moi comme étant le troisième genre de bâtonnets lactiques, jouent peut-être un certain rôle dans la dernière phase de la maturation du fromage. De toutes façons, leur multiplication dans cette phase a été prouvée par BURRI et est due au fait que, comme les bactéries propioniques, elles peuvent faire fermenter le lactate de calcium.

Quoique les facteurs les plus importants de la maturation du fromage soient connus, il existe encore — et ceci s'applique aussi à d'autres phénomènes de fermentation de la laiterie — la grande difficulté que le milieu de la fermentation n'est pas stérile. Le lait destiné au fromage peut contenir des bactéries nuisibles, et les producteurs de gaz, tels que les *Coli* et les bactéries butyriques, qui rendent les fromages spongieux et les font même se crevasser, sont particulièrement craints. On peut éviter les *Coli* en pasteurisant, par pasteurisation basse, le lait destiné au fromage, mais les spores des bactéries butyriques ne sont pas rendues inoffensives par cette opération. C'est pourquoi les bactéries butyriques sont l'ennemi n° 1 dans la fabrication du fromage. On ne devrait employer pour la fabrication que du lait ayant subi avec succès l'épreuve de la fermentation (épreuves combinées de la réductase et de la fermentation).

Les vaches malades, ou celles qui viennent seulement de guérir

(16) Sur la fermentation propionique qui a lieu dans le fromage d'Emmental, *Annuaire agricole de la Suisse*, 1906.

d'une maladie, telle que la fièvre aphteuse ou la mammité, sont les ennemies n° 2 dans la fabrication du fromage. Le lait de telles vaches est mal coagulé par la présure et aussi par les bactéries lactiques, le lait, comme le sérum du sang de vache, étant, dans ces conditions, particulièrement riche en substances bactéricides ou contre-agissantes. Alors que ces substances prolongent les qualités de conservation du lait, et peuvent être ainsi considérées comme utiles quand il s'agit de lait pour la consommation directe, elles peuvent, quand le lait est utilisé pour la fabrication du fromage, arrêter le développement des bactéries désirables de la maturation. Nous avons trouvé dans le lait, en dehors des substances bactéricides déjà connues qui sont détruites quand le lait est chauffé à 70-75° C., des substances contre-agissantes plus thermorésistantes, qui agissent spécialement pour arrêter le développement des thermobactéries (17). En fait, ces dernières bactéries ne parviennent à leur complet développement que lorsque le lait est chauffé à un point tel qu'il brunisse, et naturellement le lait destiné à la fabrication du fromage ne peut pas, pour d'autres raisons, être chauffé à un tel degré. Comme les substances contre-agissantes peuvent être combattues par un mélange d'extraits de produits facilitant la croissance, tels que la levure autolysée ou l'extrait de luzerne, nous avons essayé ce procédé mais n'avons pas encore trouvé d'extrait ne donnant pas de mauvaise saveur au fromage. Les bactéries lactiques se développent mieux dans le lait malpropre que dans le lait propre, parce que l'extrait de fumier de vache agit comme facteur de croissance ; mais nous devons, bien entendu, nous efforcer de maintenir le lait destiné à la fabrication du fromage aussi propre que possible, non seulement pour des raisons gastronomiques et hygiéniques, mais aussi pour éviter les bactéries putréfiantes (*Tyrothrix*) et les bactéries productrices de gaz dont il a été question plus haut. La seule façon de vaincre les difficultés ci-dessus décrites est d'utiliser des cultures de bactéries de la maturation avec un maximum de puissance vitale.

(Copyright pour « Le Lait »
de « Dairy Press », Copenhague.)

(17) ORLA-JENSEN et Johanne JACOBSEN. Nouvelles recherches sur les propriétés bactéricides du lait. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 2^e partie, 1930, p. 321-341.

ORLA-JENSEN. De l'influence de la pasteurisation du lait destiné à la fabrication du fromage sur la maturation du fromage. Rapport présenté au Congrès international de Laiterie de Berlin en 1937. *Compte Rendus*, vol. II, p. 211. Rapport général, K. J. DEMETER, *Le Lait*, n° 176, juin 1938, p. 639.