



HAL
open science

ÉTUDE DE QUELQUES MILIEUX SIMPLES POUR LA CONSERVATION DE FERMENTS LACTIQUES

Charles Alais, Jeanne Brigando

► **To cite this version:**

Charles Alais, Jeanne Brigando. ÉTUDE DE QUELQUES MILIEUX SIMPLES POUR LA CONSERVATION DE FERMENTS LACTIQUES. *Le Lait*, 1951, 31 (301_302), pp.1-7. hal-00928032

HAL Id: hal-00928032

<https://hal.science/hal-00928032>

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.

LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :

- Ch. ALAIS et M^{lle} J. BRIGANDO. — Etude de quelques milieux simples pour la conservation de ferments lactiques 1
- D^r COSTAS G. MACRIS et COSTAS G. TZIVANOPOULOS. — Contribution au contrôle bactériologique du lait 7
- A. CAMUS, Jacqueline BUREN, Annie LE GUEN. — Le dosage de la matière des crèmes par la détermination du taux d'humidité 15
- R. MOREAU. — Le paiement du lait suivant sa richesse en matière grasse 20

Bibliographie analytique :

- 1^e Les livres 24
- 2^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 40

- 3^o Brevets 86

Bulletin bibliographique :

- Journaux, Revues, Sociétés savantes 88

Supplément technique :

- G. GÉNIN. — La stabilisation des fibres de caséine par déamination 92

BULLETIN ANALYTIQUE :

- 1^o Revues 100
- 2^o Brevets 104

Documents et informations :

- Le lait dans l'alimentation des enfants 110
- Lait enrichi 110
- Production suédoise du lait et des protéines pendant le premier semestre 1950 . . . 111
- Communiqués 111

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

ÉTUDE DE QUELQUES MILIEUX SIMPLES POUR LA CONSERVATION DE FERMENTS LACTIQUES

par

CHARLES ALAIS et JEANNE BRIGANDO

Ce travail (2), entrepris pour répondre aux exigences de l'industrie laitière est la mise au point de milieux artificiels simples, faciles à préparer, destinés non seulement au développement des ferments, mais surtout à leur conservation.

Une étude ancienne (3) non publiée, faite au laboratoire du

(1) Reproduction interdite sans indication de source,

(2) Travail effectué au laboratoire de la Société l'Auvergne Laitière, à Aurillac, à la demande de M. Champ, directeur.

(3) Elle avait fait l'objet d'une communication verbale au XI^e Congrès de Chimie Industrielle, 27 septembre-3 octobre 1931 (Ch. Porcher et J. Brigando).

Pr PORCHER avait montré que les caséinates de calcium (30 gr. de caséine au litre pour 0 gr. 600 de calcium) de $pH \leq 7$ additionnés de lactose et de carbonate de calcium convenaient très bien pour le développement de la flore lactique.

Nous avons reconstitué ces milieux (I et II). A titre d'essais comparatifs, d'autres formules ont été envisagées dont l'une (III), ne contient que de l'azote ammoniacal, les autres IV et V, étant dépourvues d'azote.

Formules des milieux de culture :

I.

Caséinate de calcium (1)	500 cm ³ (30 gr. caséine)
Lactose	50 gr.
Carbonate de calcium.....	30 gr.
Eau de la conduite (q. s.)	1.000 cm ³

II.

Caséinate de calcium	170 cm ³ (10 gr. caséine)
Lactose	50 gr.
Carbonate de calcium.....	30 gr.
Eau de la conduite (q. s.)	1.000 cm ³

III.

Lactose	50 gr.
Carbonate de calcium.....	30 gr.
Phosphate triammonique	0,6
Phosphate dipotassique	1
Sulfate de magnésium	0,2
Chlorure de calcium	0,1
Eau de la conduite (sat. de phosphate bicalcique et de citrate de calcium) (q. s.)	1.000 cm ³

IV.

Lactose	50 gr.
Carbonate de calcium.....	30 gr.
Phosphate dipotassique	1
Sulfate de magnésium	0,2
Chlorure de calcium	0,1
Eau de la conduite (sat. de phosphate bicalcique et de citrate de calcium) (q. s.)	1.000 cm ³

V.

Lactose	50 gr.
Carbonate de calcium.....	30 gr.
Eau de la conduite (q. s.)	1.000 cm ³

(1) La caséine pure préparée d'après les indications de *Ch. Porcher* [1] malaxée dans un mortier, est additionnée lentement d'une eau de chaux titrée dans les proportions de 60 grammes de caséine pour 1 gr. 20 de CaO au litre ($pH = 6,7$ environ).

Les milieux I et II sont stérilisés à l'autoclave à 115° pendant 25 minutes ; les autres milieux moins fragiles sont stérilisés vers 120° pendant 30 minutes.

Les ferments lactiques utilisés sont :

N° 1.

Bacille *Acidophilus* du lab. de Hansen (Copenhague) :

Température de développement : 37°.

Acidité de la culture en lait : 250° D. à 37°.

N° 2.

Streptocoque thermophile de Hansen (pour fabrication de pâte dure en fromagerie) :

Température de développement : 37°.

Acidité de la culture en lait : 90-100° D.

N° 3.

Streptocoque de Hansen (souche pour levain de fromagerie et beurrerie) :

Température de développement : 27-30°.

Acidité de la culture en lait : 120° D.

N° 4.

Streptocoque pur de Poligny (pour crème) :

Température de développement : 25-27°.

Acidité de la culture en lait : 65°D.

Essais préliminaires

Deux gouttes d'une culture récente en lait, de chacune des espèces, estensemencée dans 20 cm³ des différents milieux. Toutes les cultures sont faites en double et accompagnées d'un témoin en lait stérile (écrémé, non additionné de carbonate de calcium). Après une incubation de 20 heures à l'étuve à la température propre au développement du ferment, les souches sont conservées à la température du laboratoire (18°).

Pendant vingt jours, chaque soir, une goutte de chacune des cultures est repiquée en lait stérile. Si en moins de 48 heures à l'étuve, à la température respective du développement du ferment, le lait n'a pas coagulé, nous concluons que l'épreuve est négative.

RÉSULTATS

Milieux I, II, III.

Toutes les cultures sont encore actives le vingtième jour.

Milieu IV.

Le bacille acidophile (n° 1) est inactif le quatorzième jour et les trois autres cultures sont inactives le vingtième jour.

Milieu V.

Dès le cinquième jour, la culture n° 1 est inactive. Le huitième jour, toutes les cultures sont inactives.

Cultures en lait.

Toutes les cultures sont encore actives le vingtième jour.

Après ces essais, nous éliminons les milieux IV et V qui sont incapables de conserver les ferments lactiques au delà de quelques jours. Malgré l'intérêt des milieux au caséinate de calcium (I et II), l'étude du développement des ferments lactiques est poursuivie uniquement sur le milieu III de préparation plus rapide et moins délicate.

Essais du milieu III comme milieu de culture

Il est effectué un premier ensemencement par deux gouttes d'une culture fraîche en lait de streptocoque de Hansen (n° 3) dans 20 cm³ du milieu. La culture est laissée à l'étuve à 27-28° pendant vingt-quatre heures, puis dans une chambre à température constante (15-18°) pendant vingt jours. Après ce temps, cinq gouttes de cette culture sont ensemencées à nouveau dans 20 cm³ de milieu. Cette deuxième culture traitée comme la première est après vingt jours encore normalement active.

Ces essais de véritable culture n'ont pas été poussés plus loin, car nous envisagions surtout la conservation des souches.

Essais du milieu III pour la conservation des souches

Le ferment lactique utilisé est le streptocoque (n° 3). Nous contrôlons dans ce milieu la vitalité de 7 cultures de ce ferment provenant d'une culture fraîche en lait stérile. Elles ne diffèrent que par la dose d'ensemencement variant de 1/10^e de centimètre cube à 1 cm³ pour 50 cm³ de milieu.

Tous ces essais sont accompagnés de cultures témoins en lait stérile.

Les milieux ensemencés sont laissés vingt-quatre heures à l'étuve à 27°, puis conservés à la température ambiante (18-20°).

Après trente jours, toutes les cultures dans le milieu III sont actives (repiquées en lait, le caillé se forme en vingt-quatre heures environ).

Les cultures témoins en lait (non carbonaté) sont inactives (réensemencées en lait, ne caillent pas ce dernier en quarante-huit heures).

Essais de conservation de longue durée dans le milieu III

Les ferments lactiques utilisés sont :

Le bacille *Acidophilus* n° 1.

5 streptocoques divers dont les n°s 2 et 3 et trois souches (R₁, R₂, R₃) provenant d'isolement sur lait de brebis (1). Nous faisons lesensemencements au 1/100^e dans des flacons bouchés à vis (bouchage non serré) en quantités assez importantes variant de 100 à 500 cm³. Les cultures incubées vingt-quatre heures à leur température respective de développement sont laissées dans une chambre obscure à une température constante (13-15°). Leur vitalité est contrôlée par un ensemencement mensuel en lait très régulièrement jusqu'au sixième mois et, ensuite, d'une façon plus irrégulière. Poursuivant un but essentiellement pratique, nous abandonnons les cultures dès que les repiquages dans le lait demandent plus de trente-six heures pour coaguler, car alors on tombe en dehors des conditions pratiques de la préparation des levains.

RÉSULTATS

Après un mois, tous les ferments présentent une activité normale.

Après deux mois, la culture du bacille (n° 1) est inactive.

Après trois mois, deux cultures sont inactives dont le n° 2 et un des ferments de lait de brebis (R³).

Après quatre mois, les trois autres cultures sont toujours actives.

Après vingt-deux mois, 2 cultures sont encore actives dont le n° 3 et un ferment en lait de brebis. Notons cependant qu'après le premier repiquage, le lait caille un peu plus lentement, mais les ferments ont retrouvé leur vigueur habituelle après quatre repiquages consécutifs.

Après deux ans et demi de conservation, le culture (n° 3) d'Hansen est encore active et pure.

Discussion

Nous craignons *a priori* de ne pouvoir conserver des ferments lactiques pour levain dans un milieu très simple. Les formules de milieux dits « synthétiques » sont en général compliquées et ne répondent pas aux conditions qui nous étaient imposées.

Rappelons qu'ORLA-JENSEN a indiqué [3] que les véritables bactéries lactiques exigent pour leur développement la présence de protéines ou d'acides aminés. Celles qui ne prennent pas le Gram (du type *Coli aerogenes*) se contentent comme source d'azote de sels d'ammonium. Cependant, indépendamment d'un milieu à la gélose renfermant de la caséine digérée, il mentionne qu'il a pu conserver

(1) R₁ et R₂ se développent à 27°, R₃ à 37°. Voir [2].

dans de l'eau additionnée de 2% d'amidon soluble, des bactéries lactiques pendant plusieurs années.

En visant la conservation des souches lactiques, nous avons constaté qu'un milieu relativement pauvre, ne contenant comme source d'azote qu'un sel d'ammonium, convient pour garder longtemps les streptocoques, utilisés dans la pratique laitière, dans un état d'activité suffisant. Tandis qu'après trente jours, les cultures témoins dans le lait (non carbonaté) d'un streptocoque (n° 3) sont inactives, celles effectuées dans le milieu III sont encore actives après plus de deux ans de conservation à la température ambiante.

Les streptocoques (n° 2) et le R³, et le bacille *Acidophilus* (n° 1), tous trois thermophiles n'ont pas pu être conservés plus de deux à trois mois. Pour le bacille (n° 1) le plus fragile, ceci serait conforme à la notion établie par ORLA-JENSEN [4] de la plus grande exigence des lactobacilles en nourriture azotée. Dans ce cas, les milieux au caséinate auraient peut-être donné satisfaction.

Le milieu n° III semble très bien convenir pour la conservation de certains ferments pour levain dans les laiteries. C'est un milieu facile à préparer sans produit coûteux, pouvant se stériliser sans précaution. Il a été employé couramment pendant une année en quantité importante, soit en petits flacons souches utilisés chaque semaine (technique courante), soit en flacons de un litre, pouvant servir plusieurs mois. Dans une laiterie, une de ces cultures de un litre (ferment n° 3) a été conservée deux ans à la température ambiante. Bien que le flacon ait été ouvert dix fois pour préparer la quantité nécessaire à la préparation des levains, elle est restée pure et normalement active. Cette possibilité de conservation de longue durée des ferments présente des intérêts pour l'industrie laitière sur le plan pratique et économique. Ces avantages sont surtout nets pour les expéditions lointaines et pour les besoins irréguliers en souches lactiques de certaines laiteries (1).

Conclusions

Il est indiqué trois nouvelles formules de milieux pour le développement des ferments lactiques.

Les deux premières ont de l'azote organique, la caséine, tandis que la troisième n'a que de l'azote minéral, un phosphate d'ammoniaque. Ce dernier milieu très simple a donné des résultats intéressants pour la conservation de certaines souches lactiques, à GRAM positif, pour l'approvisionnement des laiteries.

(1) Ces cultures en milieu III ont les avantages pratiques des ferments en poudre. Peut-être n'auront-ils pas les préventions et les critiques qui se rapportent à ces derniers (voir entre autres R. Vieille [5]).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Ch. PORCHER. *Le Lait*, 1929 : **88**, 81 ; **89**, 962 ; 1930 : **94**, 417.
[2] ALAIS. *Le Lait*, 1950 : **30**, 349.
[3] ORLA-JENSEN. *Le Lait*, 1924 : p. 468 ; p. 537.
[4] ORLA-JENSEN, V. C. OTTE, A. SNOG-KJAER. *Mémoires de l'Académie Royale de Danemark*, 1936, t. VI.
[5] R. VIEILLE. *Thèse*, Lille, 1936.

**CONTRIBUTION AU CONTROLE BACTÉRIOLOGIQUE
DU LAIT**

par

Dr COSTAS G. MACRIS et COSTAS G. TZIVANOPOULOS

A. Action réductrice des microbes

1. Le nombre de microbes et le degré de contamination du lait. — L'examen des aliments du point de vue hygiénique, particulièrement ceux d'origine animale, est d'une plus grande importance pour la santé publique, que le contrôle officiel des marchés se bornant à constater les falsifications ou simplement les altérations, visibles à l'œil nu, des aliments.

Le lait, produit biologique d'une importance capitale pour la nutrition de l'homme, est un terrain exceptionnel pour le développement et la multiplication des microorganismes, surtout pendant les saisons chaudes. C'est ainsi que cet aliment important devient souvent transmetteur de maladies, notamment chez le nourrisson et l'enfant.

Le nombre de tels microbes, chaque fois contenu par le lait, détermine son degré de pureté et, réciproquement, son degré de contamination.

La détermination du nombre de microbes et, notamment, celui des colibacilles, présente un grand intérêt du point de vue du contrôle d'hygiène du lait. Ces microbes qui, normalement, n'auraient pas dû exister dans le lait, constituent un critérium important du degré de contamination de celui-ci, et la source principale des colibacilles est représentée par les matières fécales des animaux et de l'homme, lesquelles, par ailleurs, peuvent également contenir bien d'autres microbes pathogènes.

Le contrôle du nombre de colibacilles contenu dans le lait cru et, plus spécialement, dans le lait pasteurisé, doit donc être tenu pour indispensable. Ce n'est que dans les pays ne possédant pas de contrôle d'hygiène, systématiquement organisé, des aliments, qu'il est permis d'offrir à la consommation du lait pasteurisé, sans que cer-