



**HAL**  
open science

# Activité lipolytique de quelques micro-organismes (1° BACTERIES)

R. Alifax

► **To cite this version:**

R. Alifax. Activité lipolytique de quelques micro-organismes (1° BACTERIES). *Le Lait*, 1972, 52 (515\_516), pp.283-296. hal-00928583

**HAL Id: hal-00928583**

**<https://hal.science/hal-00928583>**

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.

## Activité lipolytique de quelques micro-organismes (1° BACTERIES)

par

R. ALIFAX

*Laboratoire de Recherches de la Chaire des Industries Agricoles de l'I.N.A.  
16, rue Claude-Bernard, Paris 5<sup>e</sup>*

### RESUME

Au cours de ce travail nous avons étudié l'activité lipolytique de quelques micro-organismes vis-à-vis des triglycérides du beurre. Les germes examinés ont été isolés de boues d'écumeuse. Par chromatographie en phase gazeuse, nous avons identifié les acides gras libérés, dont la nature est en relation avec les propriétés lipolytiques des micro-organismes.

### I. — INTRODUCTION

Les micro-organismes ainsi que leurs lipases ont donné lieu à de nombreux travaux. C'est un fait bien connu, que ces germes, lorsqu'ils sont en contact avec un corps gras, ou avec une denrée alimentaire contenant de la graisse peuvent être à l'origine d'altérations de diverses natures.

D'une manière générale, dans une première étape, ces altérations sont la résultante des réactions d'hydrolyse au niveau des triglycérides. Il y a d'abord libération d'acides gras mineurs, butyriques notamment, c'est la rancidité. Dans une seconde étape, et selon l'équipement enzymatique des contaminants, il peut y avoir libération d'acides gras à longue chaîne, saturés ou insaturés. Les acides gras insaturés peuvent dans une troisième période être le siège de réactions d'oxydation donnant naissance à des composés divers tels que : peroxydes, hydroperoxydes, composés cétoniques, ou aldéhydiques : c'est le suiffage.

Les enzymes responsables de ces dernières altérations correspondent à des lipases vraies, telles que les définissent Sarda L. et Desnuelle P. [23] ; c'est-à-dire des enzymes qui à partir des triglycérides, libèrent des acides à longue chaîne et dont les caractères spécifiques consistent à exercer leur action à une interface eau-

lipide. Ces auteurs les distinguent des carboxyestérases qui hydrolysent les esters solubles dans l'eau.

Indépendamment de la lipolyse, les traces de caséine présentes dans la phase aqueuse du beurre, peuvent servir de substrat aux micro-organismes protéolytiques. L'ultime étape de la protéolyse conduira à la libération d'acides aminés, qui seuls, ou en combinaison avec les acides gras pourront être responsables d'arômes ou de saveurs désagréables. Ces altérations de diverses natures, peuvent déprécier considérablement la valeur marchande du produit, et même le rendre impropre à la consommation humaine ou animale.

Dans la pratique, l'industriel, le commerçant, la ménagère sont facilement alertés par le début d'altération d'un échantillon de beurre conservé à la température ordinaire. L'appréciation des caractères organoleptiques du produit examiné, donne des indications simples, rapides et précieuses. Il n'en est pas de même pour les échantillons maintenus aux températures voisines de 4° C. A ces températures, en effet, les germes psychrotrophes ou plus exactement les « mésophiles-psychrotrophes (leur température de croissance variant entre 4° C et 32° C) Eddy B.P. [11], Borgstrom G. [7], Ingram M. [15], peuvent se développer et provoquer des altérations qui, au début, sont difficiles à percevoir. Elles se manifestent par contre avec une rapidité surprenante entre le moment où le produit est retiré de la chambre froide et celui où il est livré à la consommation.

En beurrerie, la contamination a lieu dans la plupart des cas, lors des opérations qui suivent la pasteurisation : maturation de la crème, barattage, malaxage du beurre, lors du lavage de ce dernier, surtout si l'eau utilisée est plus ou moins souillée Jezeski J. J. and Macy H. [16].

Dans le domaine laitier, et plus particulièrement en beurrerie, les bactéries lipolytiques les plus étudiées appartiennent au genre *Pseudomonas*. *Ps. fragi*, *Ps. fluorescens*. Naschif S. A. and Nelson F. F. [19] ont étudié leurs lipases, les facteurs qui influence la production de ces enzymes et ont noté un optimum de leur activité à 15° C. Balls A. K. and Tucker I. W. [6] et Borgstrom déjà cité trouvent dans des beurres maintenus à -7° C un nombre appréciable de Cocci, de *Pseudomonas*, et de bactéries aérogènes. Peterson A. G. and Gunderzon H. F. [20] attribuent aux psychrotrophes, la modification de la qualité des produits laitiers (variations dans l'odeur, le goût, la viscosité. Buchanam R. E. [8] leur attribue quelquefois le caractère putride ou fruité. Hammer B. A. [3] rend responsable du goût amer, l'activité des bactéries lipolytiques. Herpeid D. O. et al. [14], Fradsen S. H. et al. [12] attribuent aux bactéries psychrotrophes du genre *Achromobacter* un certain nombre de défauts du beurre, dont la décoloration en surface. Claydon T. J. and Hammer B. W. [9] arrivaient aux mêmes conclusions que les auteurs précités.

En résumé les travaux ci-dessus mentionnés, traitent des micro-organismes lipolytiques psychrotrophes ou (mésophiles-psychrotrophes) dans leur rapport avec les altérations des produits laitiers.

En ce qui nous concerne, nous avons cherché à obtenir une image de l'activité lipolytique de quelques micro-organismes susceptibles de contaminer un échantillon ou un lot de beurre après la pasteurisation.

Dans ce but, il nous a paru intéressant de comparer l'activité lipolytique de quelques germes relevant chacun d'une tribu, appartenant aux principales familles de la classification bactériologique.

Les acides gras libérés par leurs lipases ont été isolés et analysés par chromatographie en phase gazeuse. Les profils des chromatogrammes permettent d'apprécier directement les propriétés lipolytiques de ces différents micro-organismes.

## II. — PARTIE EXPERIMENTALE

### A) Isolement des germes lipolytiques

L'isolement de ces germes a été réalisé à partir de boues d'écrémuse, sur le milieu que nous avons décrit antérieurement, Alifax R. [5].

Nous rappelons la formule :

1° *Milieu de base* : Peptone 10 g - Extrait de levure 3 g - Chlorure de sodium 5 g - Eau 1 000 ml - pH 7,8. Ce milieu est gélosé à 2 p. 1000.

Après filtration du milieu gélosé on ajoute 10 ml d'une solution de Bleu Victoria à 1/150. On répartit ensuite en fiole de 150 à raison de 90 ml par flacon. On stérilise à 120° C pendant 20 mn.

2° *Préparation de l'émulsion* : Dans un mélangeur à usage domestique, on verse 50 ml d'huile de beurre obtenue par fusion, centrifugation et filtration, puis 50 ml d'eau distillée à 60° C contenant du Tween 20 à 2 p. 100. Le beurre utilisé doit être de fabrication récente et son indice de peroxyde doit être voisin de 0,02.

Le batteur de l'appareil tournant à la vitesse maximale, 3 mn suffisent pour obtenir une émulsion bonne et stable.

L'émulsion est répartie à raison de 10 ml par tube et stérilisée à 118° C durant 20 mn.

3° *Mélange* : A 90 ml du milieu de base fondu et ramené à 50° C on mélange aseptiquement 10 ml de l'émulsion préalablement amenée à cette température. On agite durant 1 à 2 mn, peu à peu le mélange acquiert une teinte rose mauve, et devient près à l'emploi.

Parmi les germes isolés, 90 p. 100 étaient composés de bactéries Gram — et 10 p. 100 de Gram +.

Nous n'avons pas procédé à l'identification des bactéries Gram —. Mais les caractères cultureux de la plupart des souches examinées, sur bouillon (culture dense visqueuse), sur gélose inclinée (culture muqueuse, filante), nous ont permis de les classer parmi les aérobacters. Parmi celles-ci certaines utilisent le lactose, donnant un abondant dégagement gazeux, en milieu liquide au vert-brillant. Pour d'autres la production de gaz était faible ou nulle.

Les germes Gram +, sont constitués en majorité de Cocci. Nous avons dénombré environ 30 p. 100 de streptocoques par le test de la catalase (catalase —) ; 40 p. 100 de microcoques et 30 p. 100 de staphylocoques. Ces deux derniers groupes se différenciant entre eux par leur pouvoir oxydant ou fermentant sur le glucose. Mossel D.A.A. et Martin G. [18].

Parmi tous ces cocci nous avons reconnu une proportion appréciable de caséolytiques.

## B) Lipolyse

1° *Choix des souches* : Pour cette étude comparative, nous avons retenu parmi les Gram — une souche de chacun des deux groupes du genre aérobacter, utilisant le lactose, l'une avec production de gaz, l'autre sans production de gaz.

Parmi les Gram +, une souche représentant chacun des groupes Cocci.

2° *Ensemencement* : Pour chaque souche, nous avons coulé dans deux boîtes de Pétri de 220 mm de diamètre 40 ml de milieu à 5 p. 100 de matière grasse de beurre en émulsion. Le beurre utilisé à cet effet était de fabrication récente et son indice de peroxyde égal à 0,12 (indice exprimé en milliéquivalents de O<sub>2</sub> par kg de matière grasse).

Après solidification parfaite de la gélose, les boîtes étaient inondées avec une dilution au 1/10 d'une culture de bactéries de 18 h, par conséquent en fin de croissance. Après élimination de l'excès de liquide d'ensemencement par succion (en s'aidant de la trompe à vide), les boîtes étaient placées dans une étuve à 37° C, couvercles entr'ouverts, durant 4 h. Après ce délai, elles étaient recouvertes normalement, retournées et transférées dans une étuve à 30° C. Parallèlement deux boîtes nonensemencées étaient portées dans la même étuve à 30° C. Cette température d'incubation se rapproche de celle retenue par Borgstrom (déjà cité). Après 5 jours d'incubation on procédait à la récolte.

3° *Récolte* : Les plaques de gélose ensemencées avec chaque souche étaient récoltées séparément. Elles étaient broyées dans un mortier avec du sable de Fontainebleau préalablement lavé et stérilisé.

4° *Extraction* : La gélose broyée était soumise à l'extraction dans un Soxhlet par 250 ml d'un mélange-volume à volume d'oxyde d'éthyle et d'éther de pétrole préalablement purifiés (l'oxyde d'éthyle par reflux et distillation sous  $\text{SnCl}_2$  ; l'éther de pétrole, par lavage par le 1/10 de son volume de  $\text{SO}_4\text{H}_2$ , deux rinçages à l'eau, puis distillation, point d'ébullition 44-45° C). L'extraction des acides gras dure environ 5 h.

Nous avons ensuite procédé à une titration des acides gras libres totaux, par de la NaOH N/100 en présence de phénolphaléine. Les résultats de ces titrations figurent au tableau 1.

TABLEAU 1

Nombre de ml de NaOH N/100, nécessaires pour neutraliser les acides gras libres

Témoin incubé	Bactéries Gram — Lactose +		Cocci		
	Gaz —	Gaz +	Strepto.	Micro.	Staphy.
2	6	9	12	11	9

Nous avons ainsi obtenu une image approchée de l'activité lipolytique des différentes souches examinées. Après virage de l'indicateur on ajoute un excès de base, environ 2 ml de NaOH N. La solution étherée renfermant les savons d'acides gras est alors versée dans le ballon d'un évaporateur rotatif. Ce ballon est lui-même immergé dans un bain-marie maintenu à 35-40° C. Son contenu est amené à consistance sirupeuse sous pression réduite. Il est ensuite versé dans un tube en Pyrex de 22 × 220 mm, bouché émeri. Le ballon est ensuite rincé avec 2 à 3 ml d'eau distillée, et l'eau de rinçage versée dans le tube. Ce tube est ensuite immergé dans un bain d'eau glacée. Après 5 mn d'immersion, on y ajoute 10 ml d'oxyde d'éthyle contenant du butylhydroxytoluène (BHT) à 1 p. 1000. L'addition du BHT au solvant a pour but de prévenir l'oxydation des acides gras insaturés éventuellement libérés par l'activité lipolytique des souches étudiées, vis-à-vis des triglycérides de la matière grasse du beurre. On ajoute ensuite goutte-à-goutte du  $\text{SO}_4\text{H}_2$ , N. jusqu'à virage de l'indicateur. On mélange en retournant plusieurs fois le tube avec soin. Par siphonage, on prélève la phase étherée, qui contient les acides gras. On recommence la même opération avec 10 ml d'oxyde d'éthyle. Les extraits sont ensuite réunis séparément par souche et portés dans un bain-marie à 35-45° C. Leur volume est ramené à 10 ml en s'aidant d'un courant de  $\text{N}_2$ .

On procède ensuite à la méthylation des acides gras en vue de leur analyse par chromatographie en phase gazeuse.

5° *Méthylation* : Les esters méthyliques des acides gras sont préparés selon la méthode proposée par Schlenk H. et Gellerman J. L. [23] reprise par Drapron R. et Sclafani L. [10].

Nous nous sommes conformés à cette méthode de méthylation parce qu'elle convient particulièrement pour l'estérification de petites quantités d'acides gras de l'ordre de 25 µg.

6° *Chromatographie* : Caractéristiques de l'appareil utilisé :

Colonne	}	Type : Girdel.
		Métal : inox.
		Longueur : 3 m.
		Diamètre : 1/8 de pouce.
		Phase stationnaire : DEGS 4 p. 100.
		Support chromosorb G : DMDGS 80 - 100 mesch.
Gaz porteur		N <sub>2</sub> débit (pression 1,5 bars/mn).
Températures		Four 185° C - injecteur 210° C.
Détecteur		Ionisation de flamme.
Débit H <sub>2</sub>		30 ml/mn.
Enregistreur		Vitesse du rouleau 40 pouces/heure.
Atténuation électromètre		512.

Pour chaque souche nous avons injecté dans l'appareil 20 µl de CS<sub>2</sub> contenant en solution les esters méthyliques d'acides gras. Les chromatogrammes obtenus, correspondant aux souches examinées sont représentés.

Les acides gras ont été identifiés en fonction de leur temps de rétention.

### III. — RESULTATS ET INTERPRETATION

Nous avons rassemblé les différents profils chromatographiques que nous avons obtenus. Nous les avons reproduits les uns au-dessus des autres, en prenant soin de faire coïncider dans le sens vertical, la position d'un acide gras sur un graphique à celle du même acide gras sur les graphiques suivants (fig. 1 et 2).

De cette façon, le lecteur pourra aisément se faire une idée des différences qualitatives dans l'activité lipolytique des souches étudiées.

#### A) Acides gras mineurs

Si nous considérons la partie à l'extrême gauche de nos graphiques, où se situent les acides gras mineurs, ceux-ci forment un « faisceau » de pics difficilement analysables. Seule l'utilisation d'un appareil à programmation linéaire de température permettrait une interprétation valable.

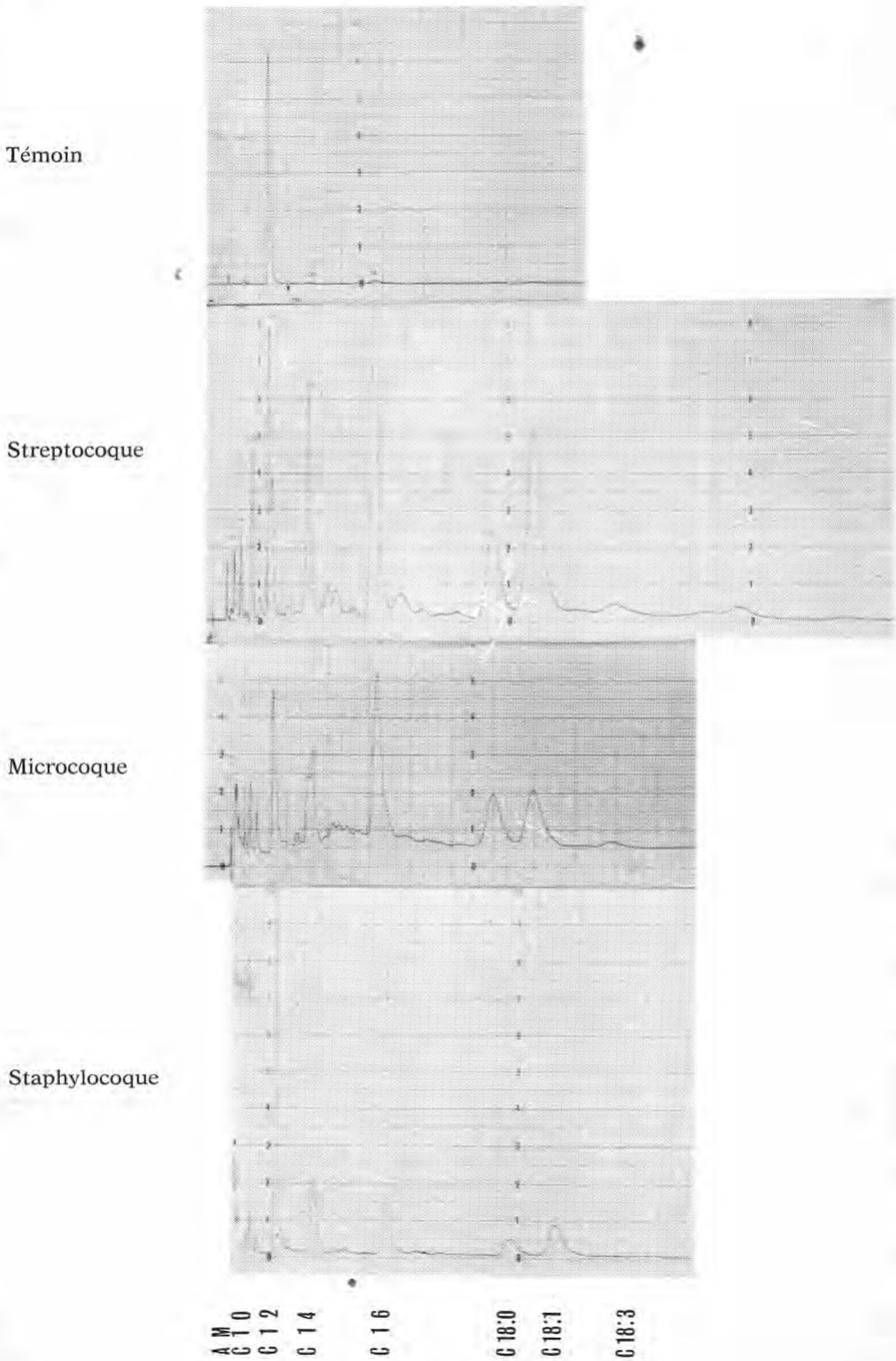
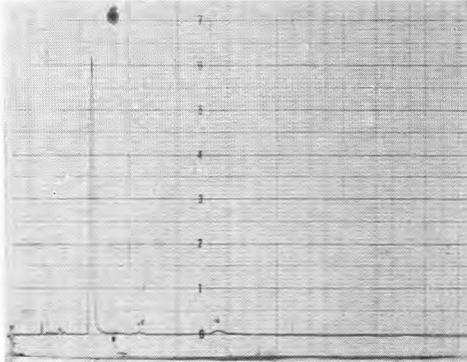
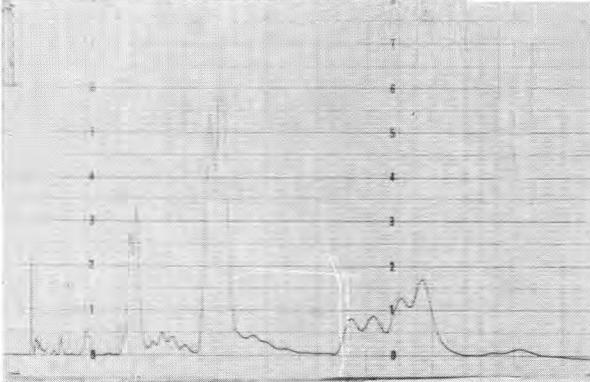


fig. 1

Témoin



Aérobacter  
lactose +  
gaz +



Aérobacter  
lactose +  
gaz -



C 10  
C 12  
C 14  
C 16  
C 17  
C 18:0  
C 18:1  
C 18:2  
C 18:3

fig 2

## B) BHT et acide laurique

L'addition d'un antioxydant aux échantillons à étudier (ici le butylhydroxytoluène - BHT) est nécessaire dans les analyses par chromatographie en phase gazeuse, surtout lorsque l'on soupçonne, la présence dans ces échantillons d'acides gras insaturés. Ce composé, dont le temps de rétention est court, apparaît très tôt sur un profil chromatographique. C'est ce pic que nous observons sur le cliché qui reflète l'image du témoin non ensemencé, mais incubé.

Maintenant, si nous examinons les autres profils chromatographiques en nous référant à ce pic, nous constatons que son amplitude subit des variations d'une souche à l'autre. L'interprétation de ces variations est délicate car le pic du BHT est confondu avec celui de l'acide laurique.

Ces variations peuvent être dues :

- 1° à une « mobilisation » du BHT si la libération d'acides gras insaturés est importante,
- 2° à une hydrolyse de l'agent d'émulsion si la souche examinée utilise le sorbitol,
- 3° à une libération d'acide laurique des triglycérides du beurre.

## C) Acides gras supérieurs

Au niveau de ces acides, l'interprétation devient plus aisée.

L'examen des différents profils chromatographiques montre que, dans l'ensemble, les souches étudiées libèrent les principaux acides gras du beurre. Pour certaines d'entre elles (streptocoque), l'hydrolyse s'étend jusqu'au  $C_{18:3}$ .

Les deux aérobactères examinés les n<sup>os</sup> 18 et 24, de notre collection montrent des profils dissemblables. Le n<sup>o</sup> 18 libère peu d'acides gras mineurs, par contre les  $C_{14}$ - $C_{16}$  et  $C_{18}$  apparaissent dédoublés sur le chromatogramme. Ce premier résultat est à accueillir, bien entendu, avec prudence. Le profil du n<sup>o</sup> 24 montre, par contre, une libération assez importante d'acides gras mineurs. Les acides gras supérieurs y apparaissent d'une façon régulière. On note également la libération d'acide gras en  $C_{18:3}$ .

Cependant quel que soit le cliché examiné, nous notons la présence de pics secondaires de plus faible amplitude. Nos possibilités d'investigations actuelles ne nous permettent pas de les interpréter.

## IV. — SPECIFICITE

Les germes étudiés appartiennent à deux groupes bien distincts définis par la coloration de Gram. Dans chaque groupe, les souches possèdent des propriétés biochimiques différentes.

Ces caractères vont orienter le mode d'action de chaque souche et déterminer sa *spécificité*. Cette spécificité sera traduite dans l'allure des différents profils chromatographiques qui indiquent eux-mêmes la nature des différents acides gras libérés des triglycérides du beurre. Cette notion de spécificité est très importante dans les réactions de lipolyse. Elle montre en effet que des germes de nature et de propriétés biochimiques différentes peuvent sécréter des lipa-

TABLEAU 2

Action de la lipase de *Staphylococcus aureus* sur un triglycéride synthétique

Triglycérides examinés	Acides gras libérés p. 100 du total		
	A. Palmitique	A. Stéarique	A. Oléique
2. Stéaro-oléique		25	75
2. Oléo-distéarique		62	38
2. Palmito-dioléique	30		70
2. Palmito-dipalmitique	78		22
2. Oléo-palmito-stéarique	49	32	19
2. Palmito-distéarique	26	74	
2. Stéaro-dipalmitique	75	25	
1. Oléo-distéarique		25	75
1. Stéaro-dioléique		24	76
1. Oléo-dipalmitique	73		27
1. Palmito-dioléique	30		70

TABLEAU 3

Action de la lipase de *Geotrichum candidum* sur ces mêmes triglycérides

Triglycérides examinés	Acides gras libérés p. 100 du total		
	A. Palmitique	A. Stéarique	A. Oléique
2. Stéaro-dioléique		1	99
2. Oléo-distéarique		2	98
2. Palmito-dioléique	1		99
2. Oléo-dipalmitique	20		80
2. Oléo-palmito-stéarique	9	1	90
2. Palmito-stéarique	50	50	
1. Oléo-dipalmitique	99	1	
1. Oléo-distéarique		2	98
1. Stéaro-dioléique		1	99
1. Oléo-dipalmitique	36		65
1. Palmito-dioléique	5		95

ses qui leur sont propres, capables d'hydrolyser un triglycéride naturel ou synthétique en une position préférentielle 1-2 ou 3, pour libérer un acide gras donné ou un mélange d'acides gras. Un exemple a été présenté par Alford J.A. [4] et *al.*, qui ont étudié la spécificité de position de la lipase de *Geotrichum candidum* et celle de *Staphylococcus aureus* par chromatographie en phase gazeuse. Leurs résultats sont réunis dans les tableaux 2 et 3.

A la suite de ces résultats l'auteur a proposé de classer les lipases en trois groupes.

Le premier groupe réunit les lipases des micro-organismes qui hydrolysent les triglycérides en position 1. Ces enzymes agiraient d'une manière identique à la lipase pancréatique. Dans ce groupe figureraient les lipases de *Ps. fragi*, *Ps. fluorescens*, *Candida lipolytica*, *P. roquefortii*.

Le second groupe comprend les lipases de *Staphylococcus aureus* et *Aspergillus niger*, qui hydrolysent en position 2.

Enfin le troisième groupe concerne les lipases du type *Geotrichum candidum* qui hydrolysent préférentiellement les esters d'acides gras insaturés, quelle que soit leur position dans la molécule des triglycérides.

Il existe une certaine analogie entre les résultats réunis par Alford et ceux que révèlent l'examen de nos différents profils chromatographiques. En effet entre les pics représentant les acides en  $C_{12}$  et  $C_{14}$  (laurique et myristique),  $C_{14}$  et  $C_{16}$  (myristique et palmitique),  $C_{16}$  et  $C_{18:1}$  (palmitique et stéarique), se situe une série de pics intermédiaires, de plus faible importance. Ces séries de pics secondaires correspondent à des mélanges d'acides gras qui sont la résultante de l'activité secondaire des lipases élaborées par les différentes souches étudiées.

La spécificité paraît être encore plus prononcée chez les micro-organismes d'un même genre. En effet, si on compare les profils résumant l'activité lipolytique de deux bactéries Gram —, que nous avons assimilés au même genre aérobacter. Elles figurent dans notre collection sous les n<sup>os</sup> 18 et 24. Sur le cliché résumant l'activité de la souche 24 on observe un dédoublement des pics représentant les  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{18:1}$  et  $C_{18:2}$ . Ces « accidents » ne se rencontrent pas avec la souche 18. Les profils chromatographiques des deux souches sont donc différents. Rappelons que ces deux bactéries du genre aérobacter se différencient, dans les limites de nos investigations, par l'utilisation du lactose avec ou sans production de gaz.

Il nous faut encore mentionner, dans le cadre de la spécificité, les travaux de Richarts T. and El Sadeck G.M. [21]. Ces auteurs soumettent les triglycérides du beurre à l'action des bactéries et des moisissures lipolytiques. Ils séparent ensuite les acides gras en volatils et non volatils, et trouvent des différences dans l'activité lipolytique de ces deux groupes de micro-organismes. Wilcox W. J. et *al.* [25]

soulignent que les lipases microbiennes hydrolysent par des voies différentes leurs substrats. Ils soulignent en effet que lorsque la tributyrine et la tricapyryline sont soumises en équimolarité à la lipase, ou plus exactement à la carboxyestérase de *P. roquefortii* l'hydrolyse se fait dans le rapport de 3/1, tandis que soumises à celle de *A. niger*, le rapport d'hydrolyse est de 1/4.

Enfin ces mêmes auteurs soulignent également que la lipase de *Geotrichum candidum* hydrolyse plus rapidement les graisses naturelles et les triglycérides du beurre que les triglycérides synthétiques.

Ces caractères généraux de spécificité, concernent naturellement les micro-organismes psychrotrophes, ceux qui nous intéressent plus particulièrement dans cette étude, comme le montrent les travaux de Alford J.A. and David, A. Pierce [3]. Alford J.A. and Blanks L.P. [4]. Ces auteurs ont étudié l'activité lipolytique de *Ps. fragi*, *Staph. aureus*, *Geotrichum candidum*, *Candida lipolytica*, *P. roquefortii*, sur l'huile de maïs et de ricin en émulsion. Ils ont montré que l'activité lipolytique de ces micro-organismes était appréciable entre le 2<sup>me</sup> et le 4<sup>me</sup> j à 7° C.

Nos résultats se rapprochent de ceux des auteurs précités. Ils présentent, en outre, l'avantage d'avoir été fournis par des micro-organismes possédant une lipase vraie, appartenant à des groupes bactériologiques distincts, et isolés à partir d'un habitat naturel (boues d'écrémuse).

## V. — CONCLUSIONS

Cette étude présente à la fois un intérêt pratique technique et scientifique.

Pratiquement, la mise en évidence de bactéries lipolytiques, dans une denrée alimentaire renfermant des lipides, peut mettre en éveil l'attention de l'industriel, du directeur d'une coopérative, ou celle de toute autre personne responsable de la conservation de cette denrée. Cela est d'autant plus important, et nous le signalons plus haut, que les dégâts causés par les micro-organismes psychrotrophes ne sont jamais rapidement décelables.

Techniquement, et ceci intéresse les laboratoires de contrôle bactériologique. Pour le dénombrement des germes lipolytiques, cette étude conseille l'élimination comme substrats des triglycérides solubles (ex. la tributyrine). Les germes qui hydrolysent ce triglycéride, possèdent sans aucun doute une carboxyestérase.

## Remerciements

Nous adressons nos remerciements à M. J. Vandeweghe, Chef du Laboratoire de l'U.C.A.L.Y.N. (Coopérative laitière de l'Yonne et de la Nièvre) qui a bien voulu mettre gracieusement à notre disposition les échantillons de boues d'écrémuse.

Nos remerciements s'adressent également à MM. Drapron et Fehr (Laboratoire de Biochimie des Céréales - Massy), Laboratoire de Recherches de la chaire de Zootechnie de l'I.N.A., Paris, qui, ainsi que leurs équipes, nous ont permis d'effectuer les analyses chromatographiques.

Reçu pour publication en février 1972.

### Summary

In This Study. The Lipolytical Properties of some Microorganisms isolated from Separator Slime towards the butter's fats were shwon.

90 p. 100 of these germs were gram — bacteriae (especially Aerobacter) and 10 p. 100 were gram + Cocci (*Micrococcus Streptococcus*, *Staphylococcus*).

One species of each of these groups was examined.

These germs have further a Psychotrophic Character. Their Presence in the butter or any other food-stuff containing fat is detrimental of the good conservation of these food products.

### Bibliographie

- [1] ALFORD (J. A.) and ELLIOTT (L. E.) (1960). — Lipolytic Activity of Microorganisms at low and intermediate T°. I. Action of *Ps fluorescens* on Lards *Research*, 25, 266.
- [2] ALFORD (J. A.) and ELLIOTT (L. E.) and CROWE (P. F.) (1961). — Lipase Activity of Microorganisms at low and intermediate T°. II. Fatty Acids Released Determination by gaz chromatographic. *J. Food Sci.*, 26, 234.
- [3] ALFORD (J. A.) and DAVID A. PIERCE (1961). — Activity of Microorganisms at low and intermediate T°. III. Activity of Microbial lipases at Temperature Below 0° C. *K. Food Sci.*, 26, 518-524.
- [4] ALFORD (J. A.) and BLANKENSHIP (L. C.) (1961). — Differences in Specificities of lipases from Species en *Pseudomonas* and *Staphylococcus*. *Bact. Procee*, 171.
- [5] ALIFAX (R.) (1958). — Utilisation du monolaurate Sorbitol (Tween 20) comme émulsionnant des graisses pour la recherche des micro-organismes de la lipolyse. *Le Lait*, 38, 129-134.
- [6] BALLS (A. K.) and TUCKER (I. W.) (1938). — Action of lipases at low Temperatures. *Ing. Eng. Chem.*, 30, 415.
- [7] BORGSTROM (G.) (1955). — Microbiological Problems of Frozeen Fodd Products. *Advances in Food Research*, 6, 163.
- [8] BUCHANAN (R. E.) and HAMMER (B. W.) (1939). — Slimy and Ropy Milk. *Iowa Agr. Expt. Sta. Res. Bul*, 22.
- [9] CLAYDON (T. J.) and HAMMER (B. W.) (1939). — Bacteriology of Butter. VIII. Relationship of *Achromobacter putrefaciens* to Putrid Defect of Butter. *Iowa Agr. Expt. Sta. Res. Bul*, 267.

- [10] DRAPRON (R.) et SCLAFANI (L.) (1969). — Méthode de détermination de l'activité lipolytique des produits biologiques solides ou pâteux. *Ann. Technol. Agr.*, 18, (1), 5-16.
- [11] EDDY (B. P.) (1960). — The use of meaning of the term « psychrophilic ». *J. Appl. Bact.*, 23, 189-190.
- [12] FRADSEN (J. H.) and GLICKSTEIN (M.) (1938). — Ropy Milk - Causes and Prevention. *Mass. State. Coll. Expert. Leaflet*, 181.
- [13] HAMMER (B. W.) (1938). — Dairy Bact. Ed. 2p. 67. *John Wiley and Sons. Inc.* New-York.
- [14] HERREID (E. O.) MACY (H.) and COMBS (W. B.) (1934). — The Microbiological of Cheese Like Flavors in Unsalted Butter. *Minn. Agr. Expt. Sta. Tech. Bul.*, 197.
- [15] INGRAM (M.) (1965). — Psychrophilic and Psychrotrophic microorganisms. *Ann. Inst. Pasteur Lille*, 16, 103-110.
- [16] JEZESKI (J. J.) and MACY (H.) (1946). — Cryophilic organisms in water and Butter. *J. Dairy Science*, 29, 439.
- [17] MORRIS (H. A.) and JEZESKI (J. J.) (1953). — The action of Microorganisms of Fatts II Some characteristics of The Lipase of *Penicillium roquefortii*. *J. of Science*, 36, 1285.
- [18] MOSSEL (D. A. A.) et MARTIN (G.) (1961). — Milieu simplifié permettant l'étude des divers modes d'action des bactéries sur les hydrates de carbone. *Ann. Inst. Pasteur de Lille*, 12, 225.
- [19] NASCHIF (S. A.) and NELSON (F. F.) (1953). — The Lipase Activity of *Pseudomonas fragi*. I. Characterization of the Enzyme. II. Factors Affecting Lipase Production. *J. of Dairy Science*, 36, 459-698.
- [20] PETERSON (A. C.) and GUNDERSON (H. P.) (1960). — Rôle of Psychrotrophic Bacteria in Froezen Food Spoilage. *Food Techn.*, 14, 413.
- [21] RICHARDS (T.) and EL SADECK (G. M.) (1949). — The Nature and Quantity of Fatty Acids produced on Butterfat by the Action of Microorganisms. *J. of Dairy Research*, 16, 1, 46-52.
- [22] SARDA (L.) et DESNUELLE (P.) (1958). — Action de la lipase pancréatique sur les esters en émulsion. *Biochim. Biophys. Acta*, 89, 193-195.
- [23] SCHLENK (H.) and GELLERMANN (J. L.) (1960). — Esterification of Fatty Acids with diazomethane on a Small Scale. *Ann. Chem.*, 32, 1412-1414.
- [24] SHIPE (W. F.) (1951). — A Study of Relative Specificity of Lipase Produced by *Penicillium roquefortii*. *Arch. Bioch.*, 30, 165.
- [25] WILCOX (W. F.), NELSON (W. O.) and WOOD (W. A.) (1955). — The selective Release of volatif Fatty Acids from Butter fat by microbial Lipase. *J. of Dairy Science*, 35, 775.