de l'Institut Pasteur, 1897). L'auteur étudie spécialement la fonction des levures de la bière sur le lait et il arrive aux résultats suivants. Les analyses sont faites quatorze mois après l'ensemencement :

TABLEAU DE BOULLANGER

	Contrôle	Sacchar- romyces Frohberg	Sacchar- romyces Meurant	Sacchar- romyces Copenhague	Sacchar- romyces Bruxelles	Sacchar- romyces Lowenbrau	Sacchar- romyces Neukirchen
Temps de la liquéfaction de la gélatine en mois	»	2	2	3	3,5	6	6
Lactose en gr. par litre	50,2	47,2	48,1	49,1	49,2	49,5	49,3
Caséine en solution par litre	5,2	16,2	15,8	11,9	11,5	8,8	8,2
Caséine en suspension	29,4	14,8	12,6	16,9	19,1	20,4	22,4
Caséine total par litre	34,6	31,0	28,4	28,8	30,6	29,2	30,6
Ammoniaque par litre	0,076	0,248	0,52	0,464	0,293	0,388	0,297
Résidu minéral en solution	5,2	4,1	4,2	4,6	4,3	4,8	4,9
Résidu en suspension .	2,3	3,3	3,4	3,1	3,2	2,4	2,6

Comme nous le voyons par ce tableau, l'énergie de la décomposition de nos *torulas* est beaucoup plus grande que celle des levures mentionnées. Plus tard, BEIJERINCK (*Central. f. Bakteriolog.*, II, t. III. 1897), GREET, BAHN et WILL ont étudié la question de la protéolyse chez les levures, sans venir à des résultats définitifs. Généralement, on estime que l'enzyme est une trypsine, mais on doit remarquer que chez les levures cette enzyme n'est pas sûrement identique à une trypsine ordinaire, parce qu'elle agit dans un milieu strictement acide, tandis que la trypsine agit, comme nous le savons, seulement dans un milieu alcalin.

Notre *torula* appartient au groupe des *torulacées* que représentent les espèces comme : *Torula Duclaux*, *Torula lactis* Adametz, *Torula Kephyr*, *Torula Tyrocola* Beijerinck, *Torula Kayser*, *Torula Mazé* et *Lactomyces inflans caseigrana* Boicichio. Elle ressemble surtout à la levure de Boicichio et se distingue de celle-ci seulement parce qu'elle liquéfie la gélatine et qu'elle produit de l'acide, ce que ne fait pas le *Lactomyces* nommé. A ce point de vue, elle représente alors pour ainsi dire une espèce nouvelle.

(A suivre.)

**PRODUCTION D'UNE ODEUR ET D'UNE SAVEUR
DE « CARAMEL » DANS LES PRODUITS LAITIERS PAR LE
STREPTOCOCCUS LACTIS (LISTER)**

par Wilfrid SADLER B.S.A., M. Sc.,

Professeur de Laiterie à l'Université de la Colombie Britannique, à Vancouver (Canada).

La présence, dans les produits laitiers, de l'odeur et de la saveur de « caramel » a été observée de temps en temps. Il est même pro-

bable que cette présence a été, et est, plus fréquente qu'une revue de la littérature scientifique à ce sujet pourrait le faire supposer, en raison de la variété des termes employés pour décrire à la fois l'odeur et la saveur.

Dans une « note sur un organisme produisant un goût de lait brûlé » [1] (1911), j'ai décrit un échantillon de lait reçu pour examen comme suit :

« Le lait était acide, et avait un arôme ressemblant à celui du caramel ; tandis que la saveur était semblable à celle d'un lait qui aurait été cuit ou brûlé ; en outre, la saveur était nettement amère, le lait étant ainsi tout à fait impropre à la consommation, tout au moins au point de vue de la dégustation ».

Je trouvai que l'organisme en cause était une variété de *Bacterium lactis acidii* de LEICHMANN, variété typique à tous égards, sauf qu'en outre elle produisait l'arôme et la saveur distincts ci-dessus définis. Du beurre fait avec de la crèmeensemencée avec cet organisme avait l'arôme et la saveur caractéristiques. En employant du laitensemencé pour la fabrication de fromage, celui-ci avait les défauts ci-dessus signalés.

DUCLAUX [2] parle d'un goût de « brûlé » quelquefois observé dans des études sur l'amertume dans le lait. WEIGMANN [3] (1911) observe que certaines espèces de *Streptococcus lacticus* donnent un goût de malt. En faisant du beurre expérimental avec de la crème infectée par les organismes donnant ce goût de malt, on obtient un produit ayant une saveur de brûlé ou de rôti. LEITCH [4] (1918) a trouvé deux organismes du type *Streptococcus lacticus* donnant une saveur de brûlé au caillé pendant la fabrication du fromage, et au beurre fait de crème mûrie avec leur aide ; la saveur de brûlé était à la fois appréciable à l'odorat et à la dégustation. Dans une étude sur la flore bactérienne du beurre, commencée en 1919, SADLER et VOLLUM [5] obtinrent de beurre, fabriqué dans une laiterie spéciale, trois espèces qui produisirent l'odeur caractéristique de caramel dans le lait. Ces espèces étaient d'un type semblable au *Streptococcus lactis* à beaucoup d'égards ; mais elles liquéfiaient la gélatine. KAYSER [6] (1921), en discutant du lait amer, se réfère à mon travail de 1911 : « SADLER nous a fait connaître des bactéries lactiques donnant le goût amer au lait et au beurre ». ORLA JENSEN [7] (1921), en indiquant que C.O. JENSEN isola des bactéries lactiques qui donnaient un goût de brûlé ou malté à la crème et au beurre, observe que le goût défini est souvent produit par des variétés de *Streptococcus lactis*. Dans une étude plus détaillée sur l'odeur de brûlé ou de caramel dans les produits laitiers, HAMMER et CORDES [8] notent que la saveur de brûlé suggère à certains le caramel, à d'autres le lait condensé, et le malt à d'autres. MAC DONNELL (1899), cité par les précédents [8] donna le nom de *Bacterium lactis acidii maltigenum* à une espèce pro-

duisant de l'acide lactique, parce qu'elle produisait dans le lait une odeur et une saveur rappelant le malt. HAMMER et CORDES [8] clarifient la terminologie employée dans la description de cette maladie en supprimant l'emploi du mot « brûlé » et en adoptant, entièrement, comme dénomination de la saveur, le terme « caramel » précédemment employé par moi pour définir l'arôme caractéristique. Ils trouvèrent que cette saveur était commune dans la crème acide livrée aux beureries de l'état d'Iowa, et isolèrent des espèces de *Streptococcus lactis* de crème et de beurre ayant la saveur du caramel, d'un échantillon d'excrément de vache, et d'eau d'un bac de réfrigération d'une ferme d'Iowa. Ils montrèrent que les bactéries isolées étaient de la même espèce, produisaient l'odeur et la saveur caractéristiques dans du beurre expérimental fait avec de la crème infectée, et classifièrent expérimentalement l'organisme en question sous le nom de *Streptococcus lacticus* var. *multigenus*.

OBJET DE LA PRÉSENTE ÉTUDE

Il y a un peu plus d'un an, 15.000 livres de beurre fabriqué dans une laiterie de la Colombie Britannique furent trouvés invendables en raison d'une saveur spéciale désagréable. Un ancien étudiant (1), qui avait beaucoup d'expérience, fut envoyé à la laiterie. Après avoir effectué une visite détaillée de la laiterie, il rapporta les échantillons indiqués ci-dessous. A ce moment, la crème n'était pas pasteurisée dans cette laiterie.

Echantillons reçus au laboratoire :

a) Crème de chacun des 12 fournisseurs ; b) eau employée à la laiterie ; c) 6 livres de beurre qui avaient été en magasin, et qui avaient une saveur indésirable ; d) 6 livres de beurre fabriqué pendant le séjour de TOWNSEND, avec la meilleure qualité de crème classée ; e) 6 livres de beurre fabriqué pendant le même séjour avec de la crème de seconde qualité.

N. B. — TOWNSEND indique que 90 % de la crème classée au-dessous de la « spéciale » l'était ainsi en raison d'une saveur amère.

Le beurre marqué (e) avait une odeur et une saveur de caramel quand il fut déballé à l'arrivée au laboratoire ; l'échantillon (d) n'avait pas les mêmes défauts à ce moment, mais une odeur et une saveur de caramel furent observées plus tard : l'arôme et le goût du beurre emmagasiné (échantillon c) étaient masqués par l'âge et la détérioration géné-

(1) Mr. C. T. TOWNSEND, qui obtint plus tard la bourse W. C. MACDONALD, fut l'étudiant choisi pour cette visite. Il classa les crèmes d'après leur origine à l'arrivée à la laiterie, fit les essais chimiques nécessaires, fit aussi, avec le Directeur, divers barattages, rapporta de nombreux échantillons et s'acquitta, en résumé, très bien de sa mission. Je suis très obligé à M. TOWNSEND.

FIG. 1

Spores de *Cladosporium herbarium*

FIG. 2

Croissance des conidies du
Cladosporium herbarium
en chambre humide

FIG. 3

Colonies de *Torula 39* sur gélatine

FIG. 4

Torula 39

FIG. 5

Torula 40

FIG. 1 (1)

Culture SA 30 sur sérum de lait-gélose, 27 heures à 21° C. ;

Grossissement : 900 fois

FIG. 2

Culture SA 30. Bouillon glucosé, 22 heures à 30° C. ;

Grossissement : 900 fois

(1) Pour les photo-micrographies, on a utilisé l'oculaire compensateur de Zeiss.

Pour la fig. 1, le microscope de Zeiss : objectif achromatique à immersion dans l'huile n° 90 (1.23) ; pour les fig. 3, 4 et 5, l'objectif apochromatique à immersion dans l'huile n° 90 (1.3) ; pour la fig. 2, l'appareil de Leitz avec les mêmes objectifs que pour 3, 4.

Les 5 coupes ont été colorées au Gram. Pour la coupe 3, l'éosine a été employée comme contre-colorant.

FIG. 3

Coupe de 5μ d'épaisseur d'un fromage dont le SA 30 était le levain lactique.
 A noter la forme caractéristique de quelques-unes des cellules
 Grossissement : 1.800 fois

FIG. 4

Préparation par contact direct avec le fromage ci-dessus
 (SA 30 levain) alors qu'il avait 34 jours. A noter les formes en baguette
 et le groupement des colonies ;
 Grossissement : 900 fois

FIG. 5

Un autre champ du n° (D) 10.503 ;

Grossissement , 1.800 fois

rale. Des ensemencements directs dans du lait stérile furent faits avec chaque lot de beurre, avec l'eau, et avec 7 des échantillons de crème reçus (échantillons 40, 54, 148, 207, 253, 293 et 301). Le lait ensemencé avec l'eau montra un caillé solide, avec décoloration du tournesol, mais aucune odeur de caramel ne fut décelée. Dans presque tous les cas, les autres ensemencements produisirent un caillé solide et une réduction du tournesol. Les ensemencements avec les échantillons 54 et 148, en particulier, donnèrent un arôme identique à l'arôme noté en débballant le beurre indiqué par (e); et l'ensemencement par l'échantillon 207, une crème particulièrement amère, donna l'odeur de caramel.

Du beurre fait expérimentalement, avec la crèmeensemencée avec des espèces tirées de l'échantillon 148, avait un arôme et une saveur de caramel bien nets. Des cultures pures d'organismes produisant l'arôme de caramel dans le lait furent obtenus de ce beurre (1).

La nature des caillés, l'odeur nette de brûlé ou de caramel et l'arôme à l'ouverture des emballages de beurre, suggéraient un rapport entre la difficulté soumise à l'enquête et l'odeur de caramel ou de brûlé, dont je m'étais précédemment occupé. Mes recherches s'orientèrent donc sur cette supposition.

Il était nécessaire de procéder à de nombreuses cultures. Des organismes donnant l'arôme caractéristique de caramel dans le lait furent isolés de chacun des trois lots de beurre, et les espèces isolées des échantillons 148 et 207 se montrèrent si nettes et si définies dans leur propriété de produire l'odeur de caramel que les études sur les autres échantillons de crème furent arrêtées. Des espèces représentatives de chacune des sources ci-dessus indiquées — désignées sous le nom de séries SA pour identification — furent transportées sur gélose nutritive, dans des flacons de Freudreich, et mises de côté pour études ultérieures.

Étude des cultures: Quand les cultures furent reprises en octobre 1925, les organismes avaient été ensemencés sur gélose, sans changement, depuis six mois.

Milieux employés: <i>Gélatine nutritive</i>	Difco (desséchée) [9]
<i>Gélose nutritive</i>	»
<i>Gélose additionnée de sérum de lait</i>	»

Milieu pour les déterminations de la fermentation: Méthode de la gélose liquéfiée adoptée. De la gélose nutritive fut préparée,

(1) Des preuves suffisantes de la nature spécifique du trouble soumis à l'enquête ayant été obtenues, des instructions appropriées furent données à la laiterie en question.

du pourpre de bromocrésol ajouté comme indicateur, puis les hydrates de carbone nécessaires, ajoutés respectivement dans la proportion de 1/2 à 1 %. Le milieu fut mis en tube, puis stérilisé à l'autoclave.

Gélose-nitrate Voir le manuel des méthodes américaines [10]

Lait : du lait fraîchement écrémé fut mis en tube, ou en flacons et tyndallisé dans la vapeur vive pendant trois jours successifs.

Lait au tournesol : préparé comme ci-dessus, la quantité nécessaire de teinture de tournesol de Kahlbaum étant ajoutée avant la mise en tube.

Après avoir été revivifiées sur des plaques d'agar-sérum, les espèces désignées pour l'étude étaient : la culture SA1, obtenue du beurre fait expérimentalement avec la crèmeensemencée par l'organisme isolé de la crème 148 ; la culture SA30, représentant une culture SA1 plus récemment repurifiée ; les cultures SA2, SA8, SA14, du beurre échantillonné sous (c) ; la culture SA3 de la crème 148 ; la culture SA4 de la crème 207 ; les cultures SA6, SA10, SA20, du beurre échantillonné sous (d) ; et la culture SA16 du beurre échantillonné sous (e). En raison d'une erreur, la culture SA8 ne fut pas comprise dans les déterminations ci-dessus.

Chaque espèce prenait le Gram, ne liquéfiait pas la gélatine après 25 jours d'incubation à 21°C. et montrait une croissance nette en 24 heures à 21°C. sur gélose-sérum inclinée : la croissance était classée de « rare » à « modérée ».

Pour la fermentation des hydrates de carbone, des géloses liquéfiées furent employées dans toutes les déterminations, excepté pour celles du glucose. Aucun gaz ne fut produit par les hydrates de carbone essayés. Toutes les espèces donnèrent une fermentation acide avec le glucose, le lévulose et le lactose ; la saccharose eut une fermentation acide avec SA6 et SA16 seulement ; une fermentation acide dans le gélose-maltose fut produite par SA2, 6, 10, 14, 16, 20 ; le xylose fermenta avec SA1, 6, 16, 30 ; la mannite avec SA14 seulement ; tous, excepté SA4, produisirent de l'acidité dans la salicine ; la glycérine ne fermenta avec aucune espèce.

D'après les réactions notées par HAMMER et CORDES [8], et comparées avec celles indiquées par ORLA-JENSEN dans son étude des bactéries lactiques [11], les variations enregistrées sur les hydrates de carbone ne sont pas plus grandes que celles notées en étudiant les espèces typiques de *Streptococcus lactis*.

Action sur le lait :

Quand les études préliminaires furent effectuées au printemps de 1925, les cultures SA1, 10, 14, 16 et 20, furent notées comme ayant donné l'arôme caractéristique dans le lait à un degré plus ou moins grand. A la reprise de l'étude, beaucoup de transplantations

sur gélose sérum furent effectuées, et mises à l'étuve à 21°C avant que les ensemencements sur lait ne furent entrepris. On observa à ce moment une assez petite variation dans l'effet sur le lait. Quelques espèces parurent donner des résultats positifs, indéterminés ou négatifs, respectivement, au fur et à mesure que les déterminations étaient répétées ; et, dans certains cas, même la faculté de coaguler le lait sembla presque se perdre. Toujours, après avoir été en cultures pures, pendant plusieurs mois, la propriété de produire l'arôme caractéristique de caramel dans le lait fut conservée, intacte, par la culture SA3, de la crème 148, la culture SA 30, une repurification de la culture SA 1, la culture SA4, de la crème 207, et la culture SA8, du beurre qui avait été emmagasiné.

N. B. — La culture SA8, qui avait été précédemment oubliée, fut incluse dans les déterminations faites sur le lait.

Il faut noter qu'il n'y a pas de corrélation apparente entre la faculté de produire l'arôme de caramel dans le lait et la réaction des diverses espèces sur les hydrates de carbone employés. Une étude plus détaillée a été faite de la culture SA30.

Étude de la culture SA 30 :

L'histoire de cette culture, qui remonte à la crème originelle 148, a été donnée à la page 128. Avant que l'espèce ne fut soumise à l'étude ci-dessus, elle était passée par du beurre expérimental, avait été repurifiée, et transférée plusieurs fois sur gélose et gélose-sérum.

Microscopiquement, l'organisme prend le Gram et apparaît sous la forme d'une cellule ovoïde, parfois isolée, plus souvent par paires, avec quelques grappes et quelques rares chaînes, quand on fait des préparations avec une culture jeune sur gélose-sérum. (Fig. 1).

Sur gélose-sérum inclinée, la croissance passe de rare à modérée en 24 heures : l'espèce se développe bien à 37°C. et à 21°C., particulièrement bien à 30°C., et une croissance perceptible est observée à 11-12°C. Dans les cultures ensemencées par piqure sur gélose et gélose-sérum, la croissance est bonne le long de la ligne de piqure, filiforme, modérée, avec peu ou pas de croissance à la surface de la piqure. Sur plaques de gélose-sérum, la majorité des colonies est sous la surface, et elles sont denses avec contours complets. Les nitrates, quand on emploie de la gélose-nitrate, ne sont pas réduits en nitrites. La gélatine n'est pas liquéfiée. Il ne se forme pas d'indol. Aucun gaz ne se produit dans les milieux avec hydrates de carbone.

En employant de la gélose liquéfiée, le dextrose, le levulose, le galactose, le lactose, le mannose, la salicine et le xylose fermentent et donnent de l'acidité ; le saccharose, la mannite, l'inuline, la glycérine et l'arabinose ne fermentent pas. La température la plus convenable pour la croissance semble être aux environs de 30°C.

Dans le lait tournesolé, la croissance est rapide ; le tournesol est décoloré et un caillé ferme et solide se forme, sans digestion, en 24 heures à 30°C. et 21°C., respectivement : l'odeur caractéristique de caramel peut être perçue avant que la coagulation n'ait lieu. Des flacons à large col conviennent mieux pour percevoir l'arôme et les expériences décrites ci-après doivent être consultées.

L'organisme est tué après 10 minutes à 62°-63°C. dans un bain-marie de de KOTINSKY, quand une goutte d'une pipette de 1 cc d'une culture jeune de sérum ou de lait est ajoutée à environ 7 cc. de lait.

SA30 dans le lait :

L'arome caractéristique est donné dans le lait complet frais, le lait écrémé tyndallisé et le lait écrémé stérilisé suivant la méthode habituelle des laboratoires.

0,1 cc. d'une culture vigoureuse de laitensemencée dans 400 cc. de lait stérile donna une odeur nette de caramel en 19 heures à 21°C., le lait se caillant 2 heures après ; 0,5 cc.ensemencés dans 400 cc. donnèrent un arôme plus fort. Avec un ensemencement à 1 %, l'arôme fut observé en 7 heures à 21°C., en 5 heures $\frac{1}{2}$ à 30°C. et, dans un cas, en 4 heures. Avec un ensemencement à 0,5 % du 26^e passage dans le lait, l'arôme fut produit en 20 heures à 21°C. Trois semaines plus tard, une légère odeur de caramel existait, et on pouvait déceler une odeur de brûlé ou de roussi. A 11°C.-12°C, l'arôme est produit si on laisse se prolonger une longue période d'incubation, et une légère odeur de fromage peut se remarquer au moment de la coagulation.

Au fur et à mesure de l'étude, on observa que le degré auquel l'odeur persistait, variait. Dans de rares cas, une légère odeur putride fut observée en supplément de celle de caramel. On a aussi trouvé que dans des cultures de laitensemencées à 21°C., l'organisme semble disparaître en 2 à 4 semaines. Du lait stérile, et des flacons à large col furent employés dans les nombreuses déterminations dont celles indiquées ci-dessus sont les plus typiques.

Dans le lait écrémé, passé à la vapeur pendant 20 minutes, un ensemencement à 0,05 % donna l'arôme en 19 heures à 21°C., la coagulation se produisant après.

Arome caractéristique dans le lait :

L'arome est tant soit peu doux, ressemblant un peu aux bonbons dits : caramels au beurre, et d'une manière caractéristique au caramel. Dans quelques cas, on sent le malt ; dans d'autres cas, l'odeur est de roussi ou de brûlé ; et dans quelques rares cas, le vrai caramel est accompagné par une odeur légèrement putride. L'intensité de l'arôme a quelque rapport avec le pourcentage de produitensemencé utilisé.

Quand l'organisme ensementeur est vigoureux et bien habitué au lait, l'odeur ou l'arome de caramel, spécifique et distinct, ne peut pas être prise pour une autre. L'odeur peut persister quelques jours.

Goût caractéristique dans le lait.

La saveur typique est acide, piquante distinctement de caramel, quelquefois de brûlé et occasionnellement amère. Les dents sont agacées, et, souvent une sensation désagréable de brûlé est ressentie sur la langue, sur le palais et au fond de la gorge. La sensation de « brûlé » est plus particulièrement ressentie quand le lait a 2 à 3 jours, et l'effet dure de 15 à 20 minutes.

Acidité volatile.

Mon collaborateur, le Professeur N.-S. GOLDING, détermina, en employant la méthode décrite en détail par HAMMER et BAILEY [12], l'acidité volatile de la culture SA 30. Il trouva que l'acidité volatile était de 4,8, chiffre légèrement plus bas que celui indiqué par HAMMER et Cordes [8], dans l'étude de leur espèce productrice de caramel. Ces expérimentateurs notent que les valeurs trouvées par eux étaient essentiellement les mêmes que les valeurs trouvées avec les cultures types de *Streptococcus lactis*. Suivant HAMMER et CORDES [8], on peut admettre que la culture SA 30 ne montre aucune différence avec les véritables types de *Streptococcus lactis*, en ce qui concerne l'acidité volatile.

Classification. — A part sa qualité de producteur de caramel dans le lait, les caractéristiques de cet organisme le classent comme une variété de *Streptococcus lactis* (LISTER), ORLA-JENSEN [11], BERGEY (SAB) [13]. Lefait que l'organisme ne donne pas d'acidité avec la maltose et la mannite rappelle le *Streptococcus cremoris* d'ORLA-JENSEN ; précisément, dans leur ensemble, les caractéristiques se rapprochent très près de la morphologie et des réactions des espèces de *Streptococcus lactis* étudiées par lui. La propriété de produire l'odeur de caramel, ainsi qu'il a été observé par HAMMER et CORDES [8], pourrait suggérer une différenciation d'espèce. Comme, cependant, la culture SA 30 paraît être identique avec l'organisme décrit précédemment par moi sous le nom de *Bacterium lactis acidi* (LEICHMANN) [1], aussi avec l'organisme décrit par HAMMER et CORDES sous le nom de *Streptococcus Lacticus* [8], et comme ORLA-JENSEN indique que le *Streptococcus lactis* donne au lait et à la crème, soit un goût purement acide, soit une saveur déplaisante, il est suggéré que la culture SA 30 soit classée comme *Streptococcus lactis* (LISTER) [11] [13]. Si, pour les intérêts de la spécificité, la proposition de HAMMER et CORDES [8] est avantageuse, il y a, semble-t-il, de bonnes raisons pour classer l'organisme comme *Streptococcus lactis* (Lister) var. *multigenus*.

SA 30 dans le beurre. — 30 livres (13 kg. 600) de crème douce, récemment écrémée, furent pasteurisées à 170°F. (76°C.) pendant 10 minutes, puis, après refroidissement, ensemencées avec une culture vigoureuse de lait de SA 30 dans la proportion de 1 %. La crème fermenta pendant 16 heures dans la laiterie à la température d'environ 60°F. (15°C.). En enlevant le couvercle du bac, on sentait nettement l'odeur de caramel dans le bâtiment. La crème fut divisée en deux lots. 15 livres (6 kg. 800) furent barattées de suite; le reste fut neutralisé avec de la chaux jusqu'à une acidité de 0,15 % puis baratté. A l'examen, le beurre terminé avait une odeur et une saveur de caramel fortes et caractéristiques; et aussi un goût doux, légèrement nauséabond. Deux semaines plus tard, l'odeur et la saveur de caramel étaient très nettes; la saveur était légèrement nauséabonde et une sensation de brûlé était produite sur la langue.

Une partie du beurre, conservée à la température du laboratoire, fut examinée trois mois après la fabrication. Ni odeur, ni saveur de caramel ne purent être décelées dans le beurre fait avec la crème neutralisée; mais l'odeur était désagréable. L'autre beurre avait une saveur faible de caramel, et une odeur indiquant une détérioration généralisée. Les deux étaient absolument immangeables, quelque peu nauséabonds, et avaient un effet de « brûlé » très net sur le palais. En ensemençant du lait avec chacun des deux échantillons, on produisit l'arôme caractéristique de caramel après fermentation à 30°C. Le beurre de crème neutralisée fut éliminé. On isola en culture pure l'organisme de l'autre échantillon, et la faculté de produire l'odeur de caramel dans le lait sembla s'être accentuée. Les déterminations par cultures furent effectuées, l'identité de l'organisme vérifiée, et l'espèce renouvelée est en collection sous le nom de culture SA 30 B.

En ce qui concerne la possibilité de faire disparaître l'arôme et la saveur de caramel par pasteurisation et neutralisation, les travaux de HAMMER et CORDES [8] semblent être décisifs et doivent être consultés. Ils indiquent ce qui suit: « La saveur de caramel illustre bien ce qu'est une saveur qui, une fois présente dans la crème, sera certainement, avec les méthodes actuelles, présente aussi dans le beurre ».

Des échantillons du beurre expérimental décrit ci-dessus furent apportés au Congrès Annuel des Laitiers d'Alberta, à Edmonton, en janvier dernier. J'eus la chance d'avoir l'opinion de plusieurs experts compétents et hommes de laboratoires sur la saveur de l'arôme de ces échantillons. A ce moment, chaque échantillon avait 3 semaines. Le Dr E. G. HOOD, chef des Recherches, Mr. J. F. SINGLETON, chef des Marchés, et Mr. Jos. BURGESS, chef des Experts de l'Etat, de la Section laitière d'Ottawa; Mr. W. A. WILSON, représentant des Produits Agricoles Canadiens à Londres; Mr. L. A. GIBSON, Commissaire de

la Laiterie pour le Manitoba ; et le Professeur C. P. MARKER, d'Alberta, confirmèrent tous la terminologie employée par moi pour définir et décrire à la fois l'arôme et la saveur.

Ultérieurement, le Professeur MARKER [14] m'envoya une note dont j'extraits ce qui suit : « Vous vous rappelez que quand vous m'avez montré, lors de votre visite ici, les échantillons de beurre à la saveur de caramel que vous aviez apportés de Vancouver, je vous avais dit que cette saveur était identique à celle que nous appelons « saveur de chauffé » dans nos travaux de classement par points du beurre [15]. A cet égard, je trouve que sur les 1.225 barattages classés par points pendant la saison de 1908, 62, ou 5 %, furent trouvés avoir cette note. Je ne pense pas avoir de renseignements plus anciens sur ce sujet dans nos propres travaux »... « En consultant des ouvrages danois, je pense que leur terme « branket » est équivalent à votre expression : saveur de « caramel », trouvée dans les échantillons apportés par vous à Edmonton »...

... « STORCH [16] (1890) fait allusion au défaut « branket » qu'il a trouvé dans des lots de beurre à 7 grands concours beurriers, tenus de 1878 à 1888. Il indique que sur 79 lots de beurre centrifuge exposés à Odense en 1888, 15,4 % furent trouvés « branket ».

Le Professeur MARKER donne ensuite une traduction du danois de l'ouvrage très documenté de C. O. JENSEN [17] (1891). Parmi les organismes isolés par JENSEN, une espèce, KA 4, était un petit organisme ovale, apparaissant par paires, qui ressemblait à certains organismes lactiques en dépit du fait qu'il ne changeait pas l'apparence du lait. L'espèce donnait au lait une odeur et une saveur douceâtres très prononcées de « Branket » qui lui rappelait une préparation maltée tonique appelée « Albumen-Maltose ». JENSEN isola l'organisme en opérant sur de la crème qui avait un arôme « Branket » et une saveur de malt. Il trouva que le beurre fait avec la crème avait précisément les mêmes arôme et saveur, et remarque que l'arôme pouvait être décelé immédiatement en entrant dans la laiterie dans laquelle le lait, la crème et le beurre étaient conservés.

Les observations du Professeur MARKER, sur les rapports de l'arôme et de la saveur de caramel avec le défaut de « chauffé » trouvé à un moment dans le beurre classé sous sa direction, sont d'un intérêt particulier. Ses citations de la littérature danoise, à laquelle je n'ai pas accès d'habitude, sont de la plus grande valeur. Il semble plus que probable que quelques-uns des organismes signalés par C.-O. JENSEN sont identiques, ou très proches, des espèces rencontrées par McDONNELL (1899), SADLER (1911), LEITCH (1918), HAMMER et CORDES (1921) et de celles discutées dans le présent travail. Une différence très nette réside toutefois dans l'incapacité pour l'organisme de JENSEN de cailler le lait. De la description donnée des caractéristiques au point de vue cul-

ture de son espèce KA 4, il est à peine possible de l'identifier spécifiquement avec l'espèce décrite ici ; mais de la description du « défaut », c'est-à-dire de l'arôme et de la saveur extraordinaires du beurre, l'identité de cette espèce avec celles décrites ultérieurement, et avec la culture SA 30, apparaît être très probable.

SA 30 dans le fromage. — L'action de l'organisme produisant le goût de caramel dans le fromage ayant été observée en 1911 [11] et par LEITCH [4] (1918), il était évident qu'une fabrication de fromage avec un laitensemencé avec SA 30 s'imposait. Ce lait fut pasteurisé à 142°-145° F. (61°11-62°77 C.) pendant 30 minutes, refroidi, etensemencé, dans la proportion de 3/4 %, avec une culture de lait SA 30 comme *starter*. Le *starter* avait distinctement l'arôme de caramel : le goût était celui du caramel, acide, piquant, et « brûlé » au palais. On employa assez de lait pour faire 12 fromages de Kingston (1). Ce fromage, pesant 1 livre (0 k.453), se prête remarquablement bien à un tel essai. Il est du type dur pressé, et est mûr 2 à 3 semaines après la fabrication [18] [19] [20].

En outre, on peut observer le fromage fait de temps en temps, en ayant toujours un fromage entier, non sondé, pour chaque examen. Pendant la fabrication, l'arôme de caramel fut très fort dans le laboratoire, et l'air fut saturé d'une odeur douce nauséabonde. 20 minutes après addition du *starter* au lait dans le bac, l'odeur caractéristique était nette, et quand les caillés furent chauffés dans le sérum, l'odeur était prononcée. La production d'acide fut plus rapide qu'à l'habitude ; dans son ensemble, le fromage était ferme et, plus tard, eut les qualités d'un fromage trop acide, fait avec du lait trop sûr ; ceci, malgré que la méthode choisie fut comparable à celle suivie dans la fabrication du fromage de Kingston, semaine par semaine [20]. La forte production d'acide pendant la fabrication, et la condition trop acide du fromage semblent coïncider exactement avec l'expérience de LEITCH [4], quand il fit du fromage de Cheddar avec l'espèce productrice de caramel isolée par lui.

Des coupes histologiques du caillé furent préparées au moment du passage au moulin, fig. 3, et à divers moments après que le fromage fut placé en chambre de maturation. Des préparations par contact direct furent aussi faites du fromage pendant la maturation, (fig. 4.). Les méthodes employées sont indiquées par moi dans une autre étude [20]. On voit (fig. 3), qu'au moment du passage au moulin, les organismes ajoutés comme *starter* prédominent. Sur la fig. 4, représentant une préparation par contact direct quand le fromage avait 34 jours, on voit des bâtonnets, et les organismes producteurs de

(1) Les fromages furent faits au laboratoire de laiterie par Mr. W. L. CARPENTER.

caramel du starter sont absents. Entre temps, les fromages ne mûrissaient pas, étaient durs et secs, et n'avaient aucune des qualités attribuées au fromage de Kingston type. Les formes en bâtonnet qui apparaissent à la maturité du fromage, ainsi que l'ont montré KELLY [19] et SADLER [20], étaient présentes.

12 jours, 19 jours, 34 jours, et 4 mois après la fabrication, on a examiné un fromage non troué par la sonde. A aucun moment, on ne trouva le fromage mûr. Lors des 1^{er} et 2^e examens, l'arôme de caramel était très net et, au 4^e examen, l'odeur pouvait encore être notée. Au 2^e examen, en particulier, on nota, en dégustant le fromage, un effet sur le palais de « brûlé » très net. Lors des 1^{er}, 3^e et 4^e examens (aucun ensemencement ne fut pratiqué lors du 2^e examen), des morceaux de fromage ensemencés directement dans le lait, donnèrent l'odeur caractéristique de caramel à 30°C. Dans chaque cas, l'organisme repris en culture pure, dans du lait, produisit l'arôme de caramel. La plaque par contact direct faite lors du 3^e examen, (fig. 4), montre pratiquement une culture pure de bâtonnets ; pourtant, l'organisme producteur de caramel était présent, ainsi que le prouvaient l'effet du fromage ensemencé dans le lait, et la réapparition de l'espèce en culture pure. L'identité de cet organisme avec le SA 30 originel a été établie, et l'organisme est en collection sous le nom de culture SA 30 K. Quand on ensemence SA 30 K dans le lait stérile, l'arôme de caramel produit est très net et caractéristique, et, si possible, la faculté de cet organisme de produire l'odeur de caramel est accentuée.

Comme l'organisme producteur de caramel est un *Streptococcus lactis*, il est intéressant de le trouver vivant dans un fromage de 4 mois, fromage qui est normalement mûr 2 à 3 semaines après fabrication, et qui, à 34 jours, a l'apparence microscopique de la fig. 4. Il est possible qu'un mélange judicieux de l'organisme producteur de caramel avec un *starter* puisse servir d'« indicateur » et aider aux recherches des rapports qui existe entre le type *Streptococcus lactis* (Lister) et la maturation du fromage.

Moyens de prévention et remèdes. — Comme l'organisme cause de l'arome et de la saveur de caramel est une variété de *Streptococcus lactis* (Lister), on n'en peut pas dire grand'chose, en dehors de la bonne application d'une pratique basée sur une connaissance intelligente de la bactériologie. L'organisme n'est pas difficile à tuer. Si on emploie les méthodes modernes, le lait et la crème étant classés par qualité, l'infection sera décelée par l'arôme et la livraison contaminée mise à part. La pasteurisation du lait, ou de la crème, faite suivant les règles actuelles, détruira l'organisme producteur de caramel, mais pas l'arôme et la saveur. Un nettoyage complet de tous les appareils et instruments, de l'outillage, et un passage

à la vapeur vive, empêcheront et éviteront le développement de l'infection quand une contamination initiale aura eu lieu, à condition que les procédés ci-dessus recommandés soient suivis. Tous les renseignements de laboratoire indiquent qu'une fois que l'arôme et la saveur se sont formés dans le lait, ni la crème, ni l'arôme, ni la saveur, ne peuvent être enlevés par les procédés ou traitements existants.

RÉSUMÉ

15.000 livres de beurre, fabriquées dans une laiterie de la Colombie Britannique, furent trouvées impropres à la vente, en raison d'une saveur spéciale et inacceptable.

Des échantillons de beurre frais, de beurre qui avait été en magasin, et de crèmes de divers fournisseurs, furent examinés. Une partie du beurre avait une odeur et une saveur nettes de caramel à l'arrivée au laboratoire.

Des organismes qui produisaient une odeur et une saveur de caramel dans le lait furent isolés en culture pure de chacun des échantillons de beurre et de certains des échantillons de crème.

Les organismes furent trouvés être des espèces typiques de *Streptococcus lactis* (Lister), avec cette exception qu'ils produisaient l'odeur et la saveur de caramel dans le lait. Une étude plus détaillée a été faite de la culture SA 30. L'intensité, aussi bien de l'odeur que de la saveur, dans le lait, varie, dans une certaine mesure, avec la proportion du produit contaminant.

Le beurre fait expérimentalement avec de la crème infectée à l'odeur et la saveur typiques, et un organisme, qui a conservé ses caractéristiques spécifiques, a été retiré de ce beurre âgé de trois mois.

Du fromage fait avec du laitensemencé avec l'organisme devient trop acide, accuse le défaut, ne vient pas à maturation, et est tout à fait immangeable. L'organisme, conservant ses propriétés spécifiques, a été isolé d'un tel fromage 4 mois après la date de fabrication.

L'arome et la saveur caractéristiques produits dans le lait sont définis dans l'étude précédente.

L'organisme doit être considéré comme étant un *Streptococcus lactis* (Lister) [11] [13] ou, si on accepte actuellement la suggestion de HAMMER et CORDES, un *Streptococcus lactis* (Lister) [13] var. *multigenus* [8].

Note.

Je remercie le Professeur N.-S. GOLDING, de mon Service, qui a effectué certaines déterminations chimiques et surveillé la fabrication du beurre expérimental. Il m'est agréable de noter la généreuse amabilité montrée par le Professeur C.-P. MARKER, qui m'a communiqué des citations de la littérature danoise, et qui a examiné d'une façon

critique et noté le beurre expérimental fait avec la crème infectée. Mes remerciements sont aussi dus à l'Université de la Colombie Britannique pour les facilités qui ont rendu possible la présente étude.

* * *

Addendum. — Comme la rédaction de ce travail approchait de sa fin, la culture S.A. 30 perdit la propriété de produire l'odeur et le goût de caramel : une odeur et un goût indésirables étaient évidents, mais ceux de caramel ne pouvaient être observés. La capacité de cailler le lait s'affaiblissait. Les réactions vis-à-vis des sucres et la culture sur milieux artificiels ne semblaient pas troublées. Des échantillons qui avaient été mis en stock trois mois auparavant et des échantillons restant en laboratoire depuis 1 ou 2 mois montrèrent qu'ils avaient conservé la capacité de produire l'odeur et le goût caractéristiques dans le lait. Les cultures S. A. 30 B. et S. A. 30 K. provenant respectivement du beurre et du fromage expérimentaux (voir le texte) se montrèrent typiques et caractéristiques sous tous les rapports. La capacité de produire l'arôme et le goût caractéristiques du caramel n'a pas été du tout troublée.

Cette étude semble suggérer que l'organisme demande de temps en temps une période de repos.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] SADLER, Wilfrid, 1911. *Note sur un organisme produisant un goût de lait brûlé.* Central. für Bakt. 11, Abt. 291. 1-3.
- [2] DUCLAUX, E. *Principes de Laiterie*, pp. 98 et 99, Armand Colin et C^{ie}, Paris.
- [3] WEIGMANN, H., 1911, *Mycologie du lait*, pp. 184, 211, Leipzig.
- [4] LEITCH, RENWICK, H., 1918. *La saveur de brûlé dans les produits laitiers causée par le « Streptococcus lacticus. »* Bull. West of Scotland Agr. coll. pp. 21 and 22, Glasgow.
- [5] SADLER, Wilfrid et VOLLUM, R. L., 1923. *Classement du beurre d'après sa contenance en bactéries.* The advisory Council for Research, Ottawa (Mss).
- [6] KAYSER, E., 1921. *Microbiologie Agricole*, p. 310, Baillière et Fils, Paris.
- [7] JENSEN-ORLA, (Trad. par ARUP) 1921. *Bactériologie laitière*, p. 118, J. and Churchill, London.
- [8] HAMMER, B. W., and CORDES, W. A., 1921. *Saveur de brûlé ou de caramel des produits laitiers.* Research Bull. N° 68, Agr. Exp. Sta., Ames, Iowa.
- [9] *Digestive Ferments Company*, Detroit, Michigan.
- [10] Socy. Amer. Bact. Committee, 1923, *Manuel des Méthodes*, Geneva.
- [11] JENSEN-ORLA, 1919. *Les bactéries lactiques* (en anglais). D. Kgl. Danske Vidensk. Selsk. Skrifter, Naturv. og. Mathematisk Afd., 8, Raekke, V. 2. Kjobenhavn.
- [12] HAMMER, B. W., et BAILEY, J. E., 1919. *La production d'acides volatils des starters et des organismes qui en sont isolés.* Research Bull., N° 55, Agr. Exp. Sta., Ames, Iowa.
- [13] BERGEY, (SAB) 1923. *Bactériologie*, p. 53, Williams and Wilkins, Baltimore.

- [14] MARKER, C. P., 1926. *Communication personnelle*.
- [15] MARKER C. P. *Carte de classement de beurre par points*, Form. D. 16, 3000-5-14, Alberta, Dept. of Agr.
- [16] STORCH V. 1890 (Trad.), 18^e *Rapport du Laboratoire de Recherches agricoles*. Laboratoire de Recherches Agricoles. Copenhague.
- [17] JENSEN, C. O., 1891 (Trans.) 32^e *Rapport du Laboratoire de Recherches du Collège Royal Vétérinaire et Agricole*. Copenhague. p. 24 et p. 59.
- [18] TODD, Alex. et SADLER, Wilfrid, 1911, *Le fromage de Kingston*, Jour. Bd of Agr. XVIII, 3, pp. 193-203, London.
- [19] KELLY, C. D., 1924, *La bactériologie du fromage de Kingston*. Trans. Roy. Socy. Can. 3^e Série, XVIII, pp. 51-59, Ottawa.
- [20] SADLER, Wilfrid, 1926, *La flore bactérienne du fromage de Kingston montrée par les micro-photographies*. Trans. Roy. Socy. Can. et *Le Lait* 1927, n° 1.

LES INDICATEURS ET L'ACIDITÉ TOTALE ET RÉELLE DU LAIT

par Dr Alb. J.-J. VANDEVELDE

Professeur à l'Institut Supérieur Agronomique et à l'Université de Gand,
Directeur de l'Institut Supérieur des Fermentations.

La détermination de l'indice de la concentration en ions hydrogène, que SÖRENSEN a désigné par le symbole pH, et que CLARK a proposé de nommer *degré Sørensen* (1), se fait par voie électrique et par voie colorimétrique. La méthode électrique est sans doute la plus exacte, quand elle est adroitement et souvent appliquée; la méthode colorimétrique est peut-être moins précise, mais elle est d'exécution rapide et facile, et elle offre l'avantage d'être à la portée de chacun.

La méthode colorimétrique n'est cependant bien applicable qu'à des liquides transparents: les liquides troubles, les solutions colloïdales ne peuvent pas toujours être employés. Le lait est dans ce cas; les colorants de SÖRENSEN, ceux de CLARK et LUBBS donnent des résultats très irréguliers; ceux de MICHAELIS ne sauraient être employés. Il est préférable de transformer, pour l'emploi des indicateurs, les liquides colloïdaux en solutions limpides.

SCHULTZ et CHAUDLER (2) ont proposé de déterminer le degré Sørensen en dialysant le lait à l'aide d'un sac de collodion; ils emploient un volume de lait et comme récepteur 2 volumes d'eau distillée très pure, puis ils soumettent le dialysat à l'examen colorimétrique. Ils ont trouvé ainsi pH = 6.53 en moyenne, entre 6,7 et 6,4 pour le lait de chèvre, pH = 7,22 pour le lait humain.

(1) The determination of hydrogen ions; Baltimore, 1922, p. 13.

(2) The acidity of goats milk in terms of hydrogen ion concentration, with comparisons to that of cow's and human milk; *Journ. biol. Chem.*, t. 46, pp. 129-131.