

MÉMOIRES ORIGINAUX ⁽¹⁾EFFET DE CERTAINS STREPTOCOQUES
PRODUCTEURS D'ACIDE LACTIQUE
SUR L'AROME DU FROMAGE DE CHEDDAR

Par G.-J. HUCKER et J.-C. MARQUARDT

de la « New-York Agricultural Experiment Station », Geneva (N.-Y.).

INTRODUCTION

La production de l'arome caractéristique du fromage de Cheddar est généralement attribuée à l'action de bactéries. En raison de la nature complexe de la flore du lait transformé en fromage, les bactériologistes ont été incapables de déterminer, d'une façon précise, à quel organisme particulier ou à quel groupe d'organismes, est attribuable le phénomène physiologique nécessaire qui paraît avoir lieu lorsque des bactéries sont présentes. HARDING et VAN SLYKE ont trouvé que, si les bactéries sont arrêtées dans leur développement par l'addition d'antiseptiques, le caillé passe par tous les stades normaux de la maturation ; mais l'arome caractéristique manque. Depuis les intéressantes recherches de DE FREUDENREICH (2) et de ses élèves, l'importance des bactéries, et plus spécialement des bactéries lactiques, comme agents importants de la production des aromes du fromage, est connue, de même que leur action dans la dissociation des composés azotés insolubles.

Le fait que du fromage avec un arome convenable peut être obtenu avec du lait ne contenant à l'origine qu'un petit nombre de bactéries, auxquelles a été ajoutée une quantité considérable d'un ferment acheté dans le commerce, a conduit beaucoup d'expérimentateurs à croire que les organismes ajoutés par le ferment, jouent un rôle beaucoup plus important que la production d'acide lactique seule. Le récent travail de HAMMER et BAILEY (1919) (3) a montré que les ferments du commerce sont composés de plus d'un organisme, parmi lesquels le *Streptococcus citrovorus* et le *S. paracitrovorus* sont importants en raison de la grande quantité d'acides volatils produite par ces espèces, alors que d'autres types de streptocoques lactiques ne produisent généralement pas une quantité appréciable d'acides volatils. A la production d'acides volatils peut généralement être attribué le développement de l'arome du beurre, et

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

(2) Pour une bibliographie complète relative à la maturation du fromage, voir le *Tech. Bull.*, n° 89 de la N. Y. Agr. Exp. Station.

(3) B.-W. HAMMER et D.-E. BAILEY, la production d'acides volatils des ferments et des organismes qui en sont isolés. *Iowa Agric. Exp. Sta., Res. Bull.*, n° 55. 1919.

ORLA-JENSEN croit aussi que les acides volatils dans le fromage sont importants au point de vue de la production de l'arôme. On pourrait conclure de ces observations que ces organismes produisant de fortes quantités d'acides volatils ont un effet sur la production de l'arôme, s'ils sont ajoutés en fortes proportions par le ferment additionné au lait à transformer en fromage.

Pour étudier les effets de ces organismes et d'autres types étroitement associés pour la production de l'arôme, du fromage a été produit avec du lait largement ensemencé avec des cultures de lait de *S. Citrovorus*, de *S. paracitrovorus*, plusieurs variétés de *S. lactis*, et certains représentants du groupe liquéfiant.

MÉTHODES

Origine du lait. — Le lait fut obtenu de deux laiteries représentant des extrêmes au point de vue des conditions hygiéniques. La laiterie désignée par « Troupeau I » était celle du troupeau Jersey de la Station. Le lait de cette origine contenait environ 5 % de matière grasse et était produit dans d'excellentes conditions au point de vue hygiénique. Les ustensiles et tous les appareils employés dans le traitement du lait étaient stérilisés à la vapeur et à l'aide de désinfectants chimiques et le lait contenait généralement moins de 10.000 bactéries par centimètre cube.

Le « Troupeau II » était composé en majorité de bétail Holstein-Frise et le lait contenait en général moins de 4 % de matière grasse. Les machines à traire et autres appareils n'étaient pas aussi bien tenus que ceux employés à la laiterie de la Station, et le lait contenait généralement de 500.000 à 1 million de bactéries par centimètre cube.

Procédés de fabrication. — Les fromages furent faits en pesant approximativement 5 livres (2 kgr. 2675) dans des cuves spécialement construites d'une capacité de 50 livres (22 kgr. 675). Le procédé de fabrication suivait la marche normale, sauf certaines modifications de détail nécessaires pour un traitement convenable du caillé en aussi petites quantités. Le caillé fut « cheddaré » et pressé dans une presse normale. Le lait pasteurisé fut chauffé à 145° F. (62°77 C.) et maintenu trente minutes dans de grands pots dans lesquels il fut constamment agité. Après pasteurisation, on n'employa aucun produit chimique ou autre pour aider à la coagulation.

Maturation du fromage. — La maturation du fromage eut lieu dans des chambres maintenues à 55° F. (12°77 C.). La température fut contrôlée de façon à ne pas varier de plus de 2° F. (1°11 C.) pendant toute la durée.

Notation et appréciation du fromage. — Les fromages furent examinés à intervalles réguliers, en ce qui concerne la production

d'arome, et à la fin de la maturation on leur donna des numéros de série. Ils furent ensuite notés par points et examinés par un jury composé de représentants de la Section Laitière de l'Université du Wisconsin, de l'Université de Cornwell, et de la Station de l'Etat de New-York.

Ensemencement du lait. — A la réception, le lait était divisé en deux parties égales et placé dans des cuves. A une cuve était ajouté 1 % de ferment HANSEN et à l'autre cuve des quantités variables de culture en lait de l'organisme à l'étude.

Dans les cas où des fromages étaient faits à la fois avec du lait cru et du lait pasteurisé, le lait était divisé en quatre parties, dont deux étaient pasteurisées. Un ferment commercial (HANSEN) fut ajouté à chacune des parties, brute et pasteurisée, tandis que les organismes à l'étude étaient ajoutés aux deux autres cuves.

Origine des cultures. — Les espèces de *S. citrovorus* (8) et *S. paracitrovorus* (9) furent obtenues du D^r HAMMER. Le coccus protéolytique, acide n^o 483, fut reçu de C. LIND, de Copenhague, et fut isolé d'un fromage d'Emmenthal, tandis que le G-10 fut isolé par le D^r GORINI, de Milan (Italie).

En ce qui concerne les espèces de *S. lactis*, le numéro 11 fut obtenu de la collection nationale de cultures-types de l'Institut Lister, où elle est cataloguée sous le nom de *Bacterium Guntheri*; le numéro 15 fut obtenu de la collection de la Société de Bactériologie Américaine de Washington; le numéro 7 fut reçu du D^r HAMMER, tandis que le 31 fut isolé d'un échantillon de lait cru de la qualité A.

Les cultures furent obtenues après plusieurs transplantations dans du lait et ajoutées au lait dans la proportion nécessaire, dans les cuves à fromage. Dans tous les cas, les cultures en lait des organismes à l'essai furent entretenues pour être utilisées exactement au moment de la coagulation. Dans le cas des cultures de *Streptococcus citrovorus* et de *S. paracitrovorus*, ceci fut toutefois difficile, et la culture fut examinée microscopiquement pour qu'on soit sûr de la présence d'un grand nombre d'organismes dans le lait devant servir à l'ensemencement.

RÉSULTATS

Effet du « S. paracitrovorus » sur l'arome du fromage de Cheddar. — Le groupe des *S. paracitrovorus* est caractérisé par son aptitude à produire de grandes quantités de CO² et d'acides volatils. La production d'acides volatils est particulièrement forte quand on emploie plus d'acide citrique que d'habitude, comme source d'énergie. La production d'aussi grandes quantités d'acides volatils, contrastant avec la production acide du *S. lactis*, semble indiquer qu'il joue un rôle dans la production de l'arome du fromage de Cheddar. Ceci est

particulièrement exact quand on trouve que c'est un habitant normal des ferments du commerce généralement employés dans la fabrication du fromage.

Pour obtenir des précisions sur son action dans le fromage de Cheddar, on prit du lait du matin obtenu du Troupeau I, et des quantités égales furent ajoutées à deux cuves. Une fut additionnée de 2 % d'une culture de lait de ferment commercial HANSEN, tandis qu'à l'autre cuve, on ajoutait 2 % d'une culture de lait de *S. paracitrovorus* (9).

Pendant la préparation, une différence visible apparut entre les cuves : l'absence de développement acide dans la cuveensemencée avec la culture de *S. paracitrovorus*. Ceci pouvait, toutefois, être prévu, car cet organisme particulier ne produit que de petites quantités d'acide, et l'acide se forme lentement, plusieurs jours se passant souvent avant que les cultures de lait ne se coagulent, si toutefois la coagulation a même lieu.

Après quelques jours, aucune différence apparente ne put être décelée dans l'arome du fromage obtenu des deux cuves. Cependant, après trois mois, les fromagesensemencés avec les cultures de *S. paracitrovorus* étaient bien faits, et avaient un arome très net de fromage, quelque peu piquant, et légèrement amer. Le fromage de contrôle, produit avec le ferment HANSEN, n'avait pas un arome aussi développé, et la pâte n'était pas aussi faite que dans le fromageensemencé.

Si on ne tient pas compte de la qualité, au point de vue hygiénique, du lait employé dans la fabrication du fromage, on peut dire qu'il contient suffisamment de bactéries pour influencer l'arome du fromage de Cheddar. Pour réduire cette influence au minimum, le lait reçut fut divisé en quatre parties égales, dont deux furent pasteurisées à 145° F. (62°77 C.) pendant trente minutes, et les deux autres employées non pasteurisées pour la fabrication du fromage. A une de chacune des parties, pasteurisée et non pasteurisée, on ajouta 1 % de ferment du commerce, et aux deux autres parties 1 % de culture de lait de *S. citrovorus* (9). Les quatre cuves furent traitées de la même façon à tous les points de vue, et le fromage en résultant fut affiné pendant cent dix-huit jours.

Le fromage obtenu du lait pasteuriséensemencé avec le *S. paracitrovorus* développa un arome caractéristique de Cheddar ressemblant à celui du fromage obtenu du lait cru nonensemencé. L'arome était si prononcé que beaucoup de ceux qui examinèrent le fromage, le déclarèrent « piquant » et d'autres « légèrement amer ». Il était tout à fait évident que cette espèce de *S. paracitrovorus* avait un effet marqué sur la production d'arome, à la fois au point de vue quantité et rapidité d'apparition. Ces résultats sont d'accord avec

les travaux d'EVANS (1918) (1) qui a trouvé que le *S. Kefir*, qui est identique ou très proche du *S. paracitrovorus*, avait un heureux effet sur l'arome du fromage de Cheddar.

Effet du « S. citrovorus » sur l'arome du fromage de Cheddar. — HAMMER a signalé un organisme similaire au *S. paracitrovorus*, auquel il est associé dans les ferments commerciaux, et l'a dénommé : *S. citrovorus*. Ce dernier organisme ne diffère du *S. paracitrovorus* que par quelques légers détails, en particulier en ce qui concerne la quantité d'acide produite dans le lait, le *S. citrovorus* n'en produisant que de petites quantités, rarement assez pour faire rougir le tournesol.

Du fromage fait et ensemencé de la façon indiquée ci-dessus, ne donna aucune indication d'un effet joué par cet organisme particulier dans la production d'arome. Le fromage ensemencé par le *S. citrovorus* développa un arome légèrement amer très dissemblable de celui du fromage fait avec du lait ensemencé avec le *S. paracitrovorus*.

Action des cocci liquéfiant sur le fromage de Cheddar. — Un groupe de cocci, trouvés habituellement dans le lait et les produits laitiers et probablement dans le pis, celui des cocci protéolytiques acides a été décrit par GORINI. Il y a quelque temps, il a discuté leur action probable dans la production de l'arome du fromage, et en particulier dans les variétés italiennes. Morphologiquement, ce groupe particulier ressemble au *S. lactis*, en ce sens que ces cocci se présentent par paires ; mais les individus isolés sont généralement sphériques au lieu d'être pointus et en forme de lance, comme le sont les individus isolés de *S. lactis*.

Des fromages furent faits et ensemencés avec un représentant de ce groupe par le même procédé que celui employé pour le fromage fait avec le lait ensemencé avec le *S. paracitrovorus* et le *S. citrovorus*.

Un des résultats obtenus avec les espèces protéolytiques acides fut le développement d'un arome nettement amer dans le fromage, suivi d'une rupture rapide du caillé. L'amertume se développait en deux ou trois semaines et devenait si prononcée que le fromage était trop amer pour être goûté. Ensuite, le fromage devenait mou et avait une pâte qui ressemblait au camembert.

Action du « S. lactis » comparée avec celle des ferments commerciaux sur le fromage de Cheddar. — Les organismes généralement trouvés dans les ferments commerciaux sont le *S. paracitrovorus* et le *S. citrovorus*, tandis que, dans certains cas, des espèces de *S. lactis* ont été isolées de ferments provenant de fromageries et de beurreries. L'organisme prédominant est, toutefois, le *S. cremoris* qui est carac-

(1) Alice-C. EVANS, Etude sur l'action des streptocoques dans la maturation du fromage, *Journ. Agric. Res.*, 13, p. 235-252, 1918.

térisé par son aptitude à former de longues chaînes de cocci, qui ont des surfaces plutôt aplaties à l'endroit où les grains sont joints. C'est l'organisme le plus généralement remarqué quand on examine au microscope une préparation d'un ferment commercial.

On discute, depuis quelque temps, les mérites relatifs du *S. lactis* et du *S. cremoris* comme organismes des ferments pour la fabrication du fromage. Les fabricants de ferments commerciaux préfèrent le *S. cremoris*, et isolent des espèces de cet organisme particulier pour les employer dans la préparation de leurs produits. D'un autre côté, certains fabricants de beurre ont employé très avantageusement des ferments de *S. lactis*, qui ont été préparés en employant comme base du lait normalement caillé.

Pour comparer l'effet du *S. lactis* et des ferments commerciaux dans la fabrication du fromage, on a utilisé quatre variétés de *S. lactis* : le numéro 31, isolé d'un échantillon de lait de qualité A., qui est une espèce très active et très caractéristique de cette espèce ; le numéro 15, reçu de la collection de la Société de Bactériologie Américaine de Washington, et qui est très voisin du numéro 31 ; le numéro 7, isolé par le Dr HAMMER, au Collège d'Etat d'Iowa, qui n'était pas aussi rapide que les deux espèces ci-dessus ; le numéro 1, espèce obtenue de la collection nationale des cultures-types de l'Institut Lister, culture produisant de l'acidité en quantité abondante, mais causant un rétrécissement caractéristique du caillé avec séparation d'un sérum clair.

Sur quarante notations comparatives de l'arome, la moyenne pour les fromages au *S. lactis* a été de 40,4, tandis que les fromages faits avec des laits analoguesensemencés avec un ferment commercial, étaient notés 41,9, ce qui donne en faveur de ces derniers une différence de 1,5 point. Cette différence est plutôt faible, mais l'examen des fromages montra des différences individuelles plutôt prononcées. Les fromages faits avec le laitensemencé avec le *S. lactis* paraissaient, dans l'ensemble, être de qualité égale aux fromages de contrôle faits avec le laitensemencé avec le ferment commercial HANSEN. Certaines espèces de *S. lactis* semblaient n'avoir aucun effet marqué sur l'arome du fromage, tandis que d'autres espèces de *S. lactis* semblaient exercer une influence caractéristique sur l'arome du fromage. Le numéro 31 montra les résultats les plus constants et les plus caractéristiques. Le laitensemencé avec cette espèce particulière avait un fort arome immédiatement après le caillage. Pendant la cuisson, cette odeur devenait très prononcée. Elle ressemblait à l'odeur appelée odeur de « chaleur animale » par les fabricants de fromage et qu'on trouve fréquemment dans les fabriques de fromage commercial. Cette odeur persistait dans le sérum, mais n'était pas présente dans le fromage après quelques jours de maturation. Aucune des

autres espèces de *S. lactis* ne donna cette odeur caractéristique ; mais cette culture particulière donna invariablement la même réaction chacune des nombreuses fois qu'elle fut essayée.

Les trois autres espèces de *S. lactis* donnèrent des résultats très semblables dans le fromage ; mais aucune ne produisit l'arôme caractéristique associé au numéro 31. Il semble donc qu'aucune différence apparente ne soit discernable, si les véritables espèces sont choisies, entre le *S. lactis* et les ferments commerciaux, dans leur effet sur l'arôme du fromage de Cheddar. Le fromage au *S. lactis* peut, dans certains cas, être légèrement plus acide, mais pas à un degré marqué.

Action de l'acide lactique dans la fabrication et la fermentation du fromage de Cheddar. — Il est évident qu'une des fonctions principales des streptocoques lactiques dans la fabrication du fromage de Cheddar est la production d'acide lactique. Si ceci est le seul rôle de ce groupe qui entre dans la composition des ferments commerciaux, il en résulte que l'addition au lait avant la fabrication du fromage, d'acide lactique chimiquement pur en quantités connues, devrait donner un produit égal au fromage fait dans les conditions normales avec des ferments commerciaux.

Pour étudier l'action de l'addition d'acide lactique, 60 livres (27 kgr. 2) de lait furent partagées en deux parties égales. A l'une furent ajoutés 2 % de ferments commerciaux, tandis que 2 gr. 25 d'acide lactique chimiquement pur furent ajoutés lentement à l'autre partie. Les deux cuves furent ensuite traitées de la même façon jusqu'au découpage du caillé. A la suite de cette opération, on trouva que 5 gr. 56 d'acide lactique avaient été formés par l'action des ferments dans la cuve de contrôle. Pour avoir une acidité égale dans les deux cuves, on ajouta 5 gr. 5 d'acide lactique pur à la cuve ne contenant pas de ferments. Les deux caillés furent très analogues, avec cette différence qu'il se développait constamment plus d'acide dans le sérum du fromage fait avec les ferments que dans celui du fromage fait avec l'acide pur.

Les proportions d'acide lactique donnant les meilleurs résultats dans les petites cuves, étaient d'environ 0,06 %. Le tiers de cette proportion était ajouté quand le lait était mis dans la cuve, et le reste après découpage du caillé. Ces proportions peuvent varier quand les cuves sont plus grandes.

Les fromages de ces deux premières cuves montrèrent peu de différence quand ils furent examinés plus tard. Toutefois, les fromages faits avec les ferments semblaient avoir un arôme un peu plus net.

Cette opération fut répétée plusieurs fois et, dans tous les cas, on nota très peu de différences apparentes dans les qualités de fromages.

La pratique d'ajouter de l'acide au lait avant la fabrication du

fromage au lieu d'ajouter des ferments est donc pleine de promesses. Ce procédé serait intéressant dans les stations d'expéditions, qui transforment en fromages, à intervalles irréguliers, leurs excédents de lait destiné à la vente. En effet, dans de telles conditions, il n'est pas possible de se procurer des ferments convenables et on éprouve des difficultés à fabriquer des fromages réguliers.

CONCLUSIONS

Le *Streptococcus paracitrovorus* (HAMMER), semble avoir un effet net sur la production de l'arome caractéristique qui se développe dans le fromage de Cheddar. Ceci est particulièrement exact quand on emploie du lait pasteurisé pour la fabrication du fromage.

Le *Streptococcus citrovorus* (HAMMER) ajouté au lait en grande quantité avant la fabrication du fromage n'a produit aucun effet sur l'arome du fromage de Cheddar.

Le *Streptococcus Lactis* (LÖHNIS) quoique produisant, dans certains cas, un arome un peu plus acide, a produit du fromage très proche de celui produit en employant des ferments commerciaux, qui ont le *Streptococcus cremoris* (ORLA-JENSEN) comme type prédominant des organismes présents.

Du lait auquel de l'acide lactique chimiquement pur avait été ajouté, a produit un fromage d'aussi bonne qualité que celui obtenu avec un lait similaire additionné de ferments commerciaux, l'acide étant ajouté en deux opérations : d'abord un tiers (0,015 %) quand le lait est placé dans les cuves, et le reste après découpage du caillé.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA CAUSE DU GONFLEMENT DES LAITS AU LACTO-FERMENTATEUR

AVEC UNE ANNEXE

SUR L'APPLICATION DU PHÉNOMÈNE DE D'HÉRELLE A L'INDUSTRIE LAITIÈRE

Par le D^r W.-DORNER

Ingénieur agronome attaché à l'Établissement fédéral de bactériologie
et d'industrie laitière à Liebefeld près Berne.

Chef : M. le prof. D^r R. BURRI.

— FIN —

E. — LE PHÉNOMÈNE DE D'HÉRELLE ET L'INDUSTRIE LAITIÈRE.

A la lecture de l'exposé des grandes lignes du phénomène de d'HÉRELLE que nous allons faire, on pourrait croire tout d'abord qu'il ne touche pas à l'industrie laitière. Il n'en est rien. La bactériophage est un problème de microbiologie des plus intéressants, tant au point de vue purement scientifique, qu'en vue de ses applications pratiques. En effet, dans la lutte contre les parasites animaux