Etude de quelques souches de levures isolées du fromage

par

G. MOULIN, P. GALZY et F. PERRON*

*Laboratoire de Recherches de la Chaire de Génétique
Ecole Nationale Supérieure Agronomique
Centre de Recherches Agronomiques de Montpellier
Institut National de la Recherche Agronomique
(34) Montpellier (France)*

INTRODUCTION

Certaines levures (*Kluyveromyces fragilis*) sont utilisées pour traiter le lactosérum et pour préparer une levure aliment de bonne qualité (brevet 1 128 063 des fromageries Bel). Afin d'améliorer la transformation du lactosérum un travail a été entrepris pour sélectionner des souches nouvelles. Une première étude a été effectuée en utilisant des souches de *Kluyveromyces* issues de diverses collections (Ladet et *al.*, 1972). Nous résumons ici les résultats obtenus en étudiant des souches isolées de diverses fabrications fromagères.

MATERIEL ET METHODES

A) Matériel biologique

Neuf souches de levure ont été étudiées. Les souches D₁ et D₂ proviennent de fromage blanc frais. Les souches OCH1, OCH2, O2CH, DCH et YMCH ont été isolées sur cheddar jeune. Enfin, les souches YCRV et OCRV proviennent d'une fabrication expérimentale du Centre de recherches des Fromageries Bel de Vendôme.

B) Techniques de culture

Les souches sont conservées sur yeast extract Difco 0,5 p. 100, glucose 0,5 p. 100, gélosé à 2 p. 100. Les tests physiologiques sont effectués sur yeast nitrogen base Difco avec du lactose comme seule

* Fromagerie Picon (74) Saint-Félix.

source de carbone. Les cultures sont conduites en erlenmeyers remplis au dixième du volume et agitées (amplitude 7 cm ; 80 oscillations par mn).

Les tests taxonomiques ont été effectués selon J. Lodder (1970).

C) Techniques analytiques

Les protéines sont dosées par la réaction du biuret selon Strickland (1951).

La matière sèche est mesurée par pesée après dessiccation à 108° C jusqu'à poids constant.

Le nombre de cellules est estimé par comptage hématimétrique.

Les lipides totaux, l'insaponifiable et le saponifiable sont extraits et dosés par les méthodes déjà décrites (A. Chassang et *al.*, 1972).

RESULTATS EXPERIMENTAUX

A) Etude taxonomique

L'étude taxonomique a montré que les 9 souches étudiées pouvaient être rassemblées en trois groupes. En effet, les souches D₁ et D₂ sont pratiquement identiques. Il en est de même des souches OCH1, DCH, O2CH, OCH2 d'une part et des souches OCRV, YCRV, YMCH d'autre part. Les résultats sont groupés dans les tableaux 1, 2 et 3.

Les souches D₁ et D₂ présentent une multiplication végétative par bourgeonnement multilatéral et sont sporogènes. Elles appartiennent à la tribu des *Saccharomycetaceae*. Elles diffèrent des *Kluyveromyces* par la résistance de leur asque et par leur aptitude à se multiplier en l'absence de vitamines. Elles diffèrent des *Pichia* par la vigueur du métabolisme fermentaire, l'absence de pseudomycélium et l'absence de voile et d'anneau.

En définitive ces souches semblent appartenir au genre *Saccharomyces*.

Elles sont différentes de toutes les espèces décrites (J. Lodder, 1970).

Elles assimilent le lactose contrairement aux autres *Saccharomyces*.

Les souches O2CH, OCH1, OCH2 et DCH présentent un bourgeonnement multilatéral et sont anascosporogènes. Elles appartiennent au genre *Torulopsis*. Elles sont voisines de *Torulopsis candida* bien que leurs cellules soient plus petites.

Enfin, les souches OCRV, YCRV et YMCH sont également anascosporogènes et présentent un bourgeonnement multilatéral. Elles sont très

TABLEAU 1

Souches	D ₁ - D ₂	OCH1 - OCH2 O2CH - DCH	OCR _V - YCR _V YMCH
Morphologie cellulaire	(1,5-4) × (2-5) μ	(1-2) × (2-4) μ	(1-3) × (2-6) μ
Colonies	lisses - brillantes	lisses - brillantes	lisses - brillantes
	grisâtres	blanches	blanches
Milieu liquide	— dépôt	— dépôt	— dépôt
	— pas de voile	— voile mince	— pas de voile
	— pas d'anneau	— anneau	— anneau
Ascospores	2 à 4 spores lisses	—	—
	pas asque		
Assimilation des nitrates	—	—	—
Assimilation des nitrites	—	—	—
Croissance sans vitamines	+	+	+
Croissance en présence de			
ClNa 10 p. 100	+	+	+
Esters	—	—	—
Actidione résistance	+	—	—
Pseudomycélium	—	—	—
Test à l'iode	—	—	—
Croissance sur yeast extract	+	+	—
glucose 50 p. 100 P/P			
Croissance 37° C	+	+	+

TABLEAU 2. — Tests d'assimilation et de fermentation

Souches	D ₁ - D ₂	OCH1 - OCH2 DCH - O2CH	OCRV - YCRV YMCH
Glucose	+ f.	+	+ f.
Galactose	+ f.	+	+ f.
Raffinose	+ f.	+	+
Lactose	+	—	+
Saccharose	+ f.	+	+
Maltose	+	+	+
Tréhalose	+	+	+
Mélibiose	—	+	+
α -Méthyl-D-glucoside	+ f.	—	+
f. * fermentation du substrat	+ assimilation	— pas d'assimilation	

TABLEAU 3. — Tests d'assimilation

Souches	D ₁ - D ₂	O ₂ CH - OCH OCH ₂ - DCH	OCR _V - YCR _V YMCH
L. Sorbose	+	+	+
D. Arabinose	—	—	—
L. Rhamnose	—	—	+
Ethanol	+	+	+
Glycérol	+	+	+
Inositol	—	—	—
D. Cellobiose	—	+	+
Inuline	+	+	+
A. Succinique	+	+	+
A. Lactique	+	+	+
Sorbitol	+	+	+
Manitol	—	+	+
D. Ribose	—	—	+
D. Xylose	+	+	+
A. Citrique	+	+	+
Saliciline	+	+	+
Melézitose	+	+	+
Galactitol	—	—	—
Erythritol	—	—	—
Ribitol	—	—	—

Graphique 1

Etude du rendement de croissance en présence de quantités variables de lactose.

× Protéines par ml de culture exprimées en mg.

● Nombre de cellules par ml de culture exprimé en millions.

voisines des précédentes. Cependant, elles fermentent très légèrement glucose et galactose.

B) Etude du rendement de croissance des souches D₁ et OCRV

Le rendement de croissance en présence de lactose a été étudié en faisant varier la concentration de 0,1 p. 100 à 2 p. 100.

Les résultats sont représentés sur le graphique 1.

Dans le cas de la souche D₁, le lactose est le seul facteur limitant la croissance sur yeast nitrogen base Difco jusqu'à une concentration de l'ordre de 0,6 p. 100. Le rendement de la croissance a été calculé en se plaçant dans les conditions où le lactose est le facteur limitant. L'utilisation de 1 mg de lactose donne environ :

0,5.10⁸ cellules,
0,11 mg de protéines,
0,39 mg de matière sèche.

Dans le cas de la souche OCRV, le lactose est le facteur limitant la croissance jusqu'à une concentration voisine de 0,4 p. 100. L'utilisation de 1 mg de lactose donne environ :

0,4.10⁸ cellules,
0,09 mg de protéines,
0,31 mg de matière sèche.

C) Etude de la composition des cellules

La composition des cellules des souches D₁ et OCRV a été étudiée après culture sur yeast nitrogen base Difco en présence de lactose (tab. 4).

La souche D₁ est pauvre en protéines, riche en lipides et notamment en saponifiable. Elle ne présente donc pas d'intérêt industriel.

La souche OCRV est également trop pauvre en protéines et trop riche en lipides pour être utilisée en levurerie.

CONCLUSION

Notons au passage que ces résultats confirment la grande variété des souches de levures présentes dans le fromage (M. Galzin et *al.*, 1970). Il serait important de déterminer avec précision le rôle des levures dans l'évolution et la maturation des fromages.

Parmi les souches étudiées, OCH, OCH2, O2CH, DCH ne présentent pas d'intérêt pour nous puisqu'elles ne fermentent pas le lactose. Les souches OCRV, YMCH, YCRV ont un rendement en protéines sur lactose extrêmement faible. Ces cellules sont plus pauvres en protéines et plus riches en lipides que les *Kluyveromyces*.

TABLEAU 4. — Composition des cellules de deux souches après croissance sur lactose

	Nombre de cellules par mg de matière sèche	Protéines en p. 100 de la matière sèche	Lipides totaux en p. 100 de la matière sèche	Insaponifiable en p. 100 des lipides totaux	Saponifiable en p. 100 des lipides totaux
0,2 p. 100 lactose					
D ₁	1,2	32	11	15	65
OCR V	0,8	28	9	17	48
0,8 p. 100 lactose					
D ₁	1,8	33	12	18	72
OCR V	0,9	30	8	16	54

L'ensemble de ces souches n'a pas d'intérêt en levurerie.

Les souches D₁ et D₂ présentent des caractéristiques meilleures que les précédentes. Cependant, le rendement en protéines obtenu dans les cultures sur lactose est trop faible pour que ces souches soient utilisables en levurerie. Elles présentent des caractéristiques générales inférieures à celles de *K. fragilis*.

Summary

Ten strains of yeasts were isolated during the making of some cheeses. They were classed in the genus *Torulopsis* and *Saccharomyces*. The growth on lactose and composition of cells were studied.

Reçu pour publication en décembre 1972.

Bibliographie

- CHASSANG (Aline), VEZINHET (Françoise), ROGER (M.) et GALZY (P.) (1971). — Variation de la teneur en lipides des cellules de levures au cours de la sporulation. *Folia Microbiologia*, Prague (sous presse).
- GALZIN (M.), GALZY (P.) et BRET (G.). — Etude de la flore de levure dans le fromage de Roquefort. *Le Lait*, janvier-février 1970, 1-37.
- LADET (J.), MOULIN (G.), GALZY (P.), JOUX (J. L.) et BIJU-DUVAL (F.). — Comparaison des rendements de croissance sur lactose de quelques *Kluyveromyces* Van Der Walt. *Le Lait*, novembre-décembre 1972, 613-621.
- LODDER (J.) (1970). — The yeast a toxonomic study. *North Holland Publishing company*, Amsterdam.
- STRICKLAND (1951). — The determination of small quantity of bacteria by means of the biuret reaction. *J. Gen Microbiol.*, 5, 698.
-