Contribution à l'étude de la flore levure du fromage de Camembert

Son évolution au cours de la maturation

par

J. L. SCHMIDT et J. LENOIR

(avec la collaboration technique de Michèle SCHMIDT
et la participation de Than LUU * et Christine GRAFFARD *)

*Laboratoire de Recherches de la Chaire de Technologie (I.N.R.A.)
Institut National Agronomique Paris-Grignon - Centre de Grignon (78850)*

INTRODUCTION

Les levures présentes dans les fromages ont fait l'objet d'un certain nombre d'études déjà anciennes (Duclaux, 1883 ; Mazé, 1910 ; Slobodska-Zaykowska, 1926 ; Huesmann, 1926 ; Hammer, 1926 ; Truper, 1928). Mais celles-ci mentionnaient rarement l'identité des espèces et leur évolution au cours de l'affinage. Par ailleurs, elles ne donnaient pas d'indication précise sur le rôle que pouvaient jouer ces micro-organismes dans la maturation des fromages.

Au cours des quinze dernières années divers travaux ont été orientés vers ces objectifs.

Ainsi dans les fromages de type Bleu, Kanauchi *et al.* (1962) ont suivi l'évolution de la flore levure à différents stades de la fabrication. Le rôle de cette flore dans l'implantation et le développement des bactéries acido-sensibles, telles les microcoques et *Brevibacterium linens*, a été mis en évidence notamment par Hartley et Jezeski (1954). Ceci avait d'ailleurs été montré, d'une façon plus générale, par Purko *et al.* (1951) et Galzin *et al.* (1970). Devoyod et Sponem (1970), dans leur étude de la flore du fromage de Roquefort, ont observé que les levures présentes avant le salage, au centre du fromage, étaient essentiellement des espèces fermentant le lactose (*Saccharomyces lactis*, *Saccharomyces fragilis*, *Torulopsis sphaerica*). Après le

* Stagiaires du troisième cycle « Science Alimentaire-Lait » (Université de Caen - I.N.A. Paris-Grignon).

salage, à la surface, ils ont trouvé principalement des souches appartenant aux genres *Pichia*, *Hansenula*, *Debaryomyces* et *Rhodotorula*, les levures présentes au centre du fromage s'apparentant pour la plupart au genre *Torulopsis*. Selon ces auteurs, les levures fermentant le lactose pourraient contribuer au développement de la saveur et de l'arôme typiques du fromage.

L'intervention des levures au cours de l'affinage a été reconnue dans d'autres types de pâtes. Ainsi El Erian (1969) attribue à une association levures-*Brevibacterium linens* un rôle primordial dans la maturation du fromage de Limburg.

Sozzi et Shepperd (1972) ont mis en évidence une relation entre la texture et le goût du fromage de Vacherin et le nombre de microorganismes présents, notamment les levures. Lors d'une étude sur la flore microbienne du Saint-Paulin, Ducastelle et Lenoir (1965) ont mentionné que les espèces de levures dominantes étaient *Saccharomyces cerevisiae* essentiellement et également *Kluyveromyces fragilis* et *Candida utilis*.

Par ailleurs, Dale (1972) a relevé dans la flore levure superficielle du fromage de Saint-Nectaire la présence de six espèces principales : *Endomycopsis lipolytica*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida intermedia*, *Candida sake*, *Torulopsis sphaerica* et *Sterigmatomyces nectarum* nov. spec. Prolongeant cette étude, Vergeade (1975) considère *Debaryomyces hansenii*, comme l'espèce dominante de la flore levure normale du Saint-Nectaire aussi bien sur la croûte qu'à l'intérieur de la pâte.

Une autre étude conduite sur le fromage de Cantal (Millet *et al.*, 1974) a permis de montrer que les espèces dominantes sont analogues à celles déjà mentionnées sur d'autres types de pâtes. On rencontre essentiellement *Torulopsis sphaerica*, *Kluyveromyces lactis* et *Kluyveromyces fragilis* et, en proportion plus faible, *Pichia* et *Rhodotorula*.

En ce qui concerne le fromage de Camembert, la composition et l'évolution de la flore levure ont été relativement peu étudiées.

Guittonneau *et al* (1939) ont signalé la présence, à la surface de ces fromages, de levures appartenant essentiellement au genre *Torula* et ils estimaient que pour obtenir un bon Camembert la maturation devait s'amorcer par une étape au cours de laquelle les formes levures dominent la flore superficielle.

Lenoir (1962), en étudiant la flore microbienne de ce type de fromage, a constaté que les levures représentent une fraction notable de la flore superficielle du fromage, leur nombre atteignant 10⁸ par gramme de pâte après une dizaine de jours d'affinage. Au sein de cette flore deux groupes ont été distingués, des levures sporogènes proches du genre *Saccharomyces* et des levures asporogènes s'apparentant aux genres *Candida* et *Rhodotorula*.

Afin de mieux connaître la nature de la flore levure de ce type de fromage, flore qui par sa densité de peuplement et par son activité

métabolique peut jouer un rôle important dans la maturation de la pâte, il nous a paru utile de suivre son évolution au cours de l'affinage et de préciser l'identité des principales espèces présentes.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

1. Dénombrements et isoléments des souches

Les isoléments ont été réalisés sur des fromages fabriqués à partir de lait cru dans six usines de Normandie qui ont été choisies sur la base de la qualité et de la régularité de leur production.

Dans chaque usine, trois fromages d'une même fabrication ont été prélevés aux stades suivants de l'affinage : jours 2, 4-5, 8-9, 14-15, 22-24 et 30.

Chaque fromage est découpé aseptiquement de manière uniforme, afin de séparer la surface, constituée par la couche externe de 5 mm d'épaisseur, et l'intérieur de la pâte. Les dénombrements sont effectués en double sur chacune des parties.

Les parties internes ou superficielles correspondant aux trois fromages sont homogénéisées au mortier. Dix grammes de pâte sont alors prélevés et dissous dans 90 ml d'une solution stérile de citrate de sodium à 2 p. 100 préalablement chauffée à 45° C.

Des dilutions décimales sont ensuite effectuées dans cette solution de citrate et ensemencées en boîtes de Pétri sur milieu gélose à l'extrait de pomme de terre (Potato Dextrose Agar Difco n° 43) ajusté à pH 3,5 par addition d'acide tartrique à 10 p. 100 (Hausler, 1972). Les dénombrements des colonies sont réalisés après incubation trois jours à 25° C.

Sur les boîtes contenant une centaine de colonies, 5 à 10 colonies sont prélevées au hasard et ensemencées en bouillon à l'extrait de malt (Bacto Malt Extract Broth Difco n° B 113).

A partir des cultures en bouillon, un nouvel isolement est réalisé sur gélose à l'extrait de pomme de terre afin d'assurer la pureté des souches.

Six cents souches ont été ainsi isolées et conservées sur gélose « Mycophil » (Mérieux) à + 4° C.

2. Identification des souches

L'identification des espèces a porté sur des souches de levures isolées de trois fabrications. Elle a été conduite sur les bases de la classification de Lodder (1971).

Les principaux caractères étudiés sont les suivants :

1) *Caractères cultureux et morphologie*

L'aspect de la culture est noté après 72 h d'incubation à 25° C sur bouillon Y.E.G. (extrait de levure, 0,5 p. 100 ; glucose, 2 p. 100) et sur milieu Y.E.G. gélosé. Sur les cultures en bouillon un examen microscopique direct est effectué afin d'observer la forme des cellules, leurs dimensions, leur mode de reproduction végétative.

2) *Formation d'ascospores*

La propriété de former des ascospores a été mise en évidence sur deux milieux spéciaux :

— le milieu de Fowell (1952) : acétate de sodium, 0,5 p. 100 ; gélose, 2 p. 100 ; pH 6,5-7,0 ;

— le milieu de Wickerham (1946) : gélose, 2 p. 100 ; jus de légumes (V 8, Campbell Soup Company) dilué au demi ; extrait de levure, 0,7 p. 100 ; pH 6,8.

Les examens sont effectués après 6 jours d'incubation à 25° C et le nombre ainsi que la forme des ascospores sont notés.

3) *Aptitude à la formation de filaments mycéliens*

La technique mise en œuvre est proche de celle préconisée par Wickerham et Duprat (1945) et adoptée par Devoyod et Sponem (1970). Le milieu de culture utilisé est le maïs agar (Bernhart, 1946) : extrait de maïs, 300 ml (12,5 g de farine de maïs mélangés à 300 ml d'eau distillée, chauffé 1 h à 60° C au bain-marie puis filtrés sur papier) ; gélose, 3,8 g.

La présence éventuelle de mycélium est recherchée au microscope sur les cultures sur lame après incubation 6 jours à 25° C.

4) *Fermentation des sucres*

La méthode employée est celle décrite par Vergeade (1975) ; la fermentation est décelée par le dégagement gazeux dans une cloche de Durham et par le virage de l'indicateur de pH, le rouge de phénol. L'incubation est réalisée à 25° C et les lectures sont effectuées à intervalles réguliers pendant un mois.

5) *Assimilation des sucres*

Les essais d'assimilation des sucres ont été conduits en tubes à essais sur milieu Y.N.B. de Wickerham et Burton (1948) (Bacto Yeast Nitrogen Base Difco n° 392, 0,67 p. 100). Ce milieu est stérilisé par filtration sur filtre Millipore (Stérifil H A 0,45 µm) et réparti en tubes à essais par fractions de 9 ml. A chaque tube est ajouté 1 ml d'une solution de chacun des sucres à éprouver, solution également stérilisée par filtration sur filtre Millipore, la concentration finale en sucre est 0,5 p. 100 sauf pour le raffinose : 1 p. 100. L'incubation et les lectures comportant une appréciation de la croissance par turbidimétrie sont réalisées dans les mêmes conditions que celles précisées pour les épreuves de fermentation.

6) Assimilation des nitrates

La technique utilisée est celle préconisée par Wickerham (1946) avec le milieu Bacto Yeast Carbon Base Difco n° 391 (1,17 p. 100) additionné d'une solution stérile de nitrate de potassium à la concentration finale de 0,078 p. 100. La lecture est faite après incubation 4 jours à 25° C ; en cas de résultat positif, un deuxième tube de milieu est ensemencé et incubé dans les mêmes conditions pour confirmation.

RÉSULTATS

1. Evolution quantitative de la flore levure

L'évolution quantitative de la flore levure au cours de la maturation est représentée sur les figures 1 et 2.

Les résultats des dénombrements permettent de constater qu'en surface (fig. 1) les levures sont présentes au nombre de 4.10^6 à 2.10^8 par gramme dès le quatrième jour de fabrication. Elles prolifèrent activement jusqu'aux environs du huitième-dixième jour et, à ce stade, leur nombre oscille entre 5.10^8 et 3.10^9 . Par la suite, ce nombre diminue plus ou moins rapidement et il atteint, en fin de maturation, un niveau très variable selon les fabrications.

A l'intérieur du fromage (fig. 2), le nombre des levures est nettement moins élevé et cela, dès les premiers jours ; il se produit cependant un certain développement de ces microorganismes au début de l'affinage, leur nombre atteignant, vers le quatorzième jour, entre 2.10^5 et 1.10^7 par gramme.

On observera que l'importance de la population est, d'une usine à l'autre, variable. Cependant, les courbes représentant l'évolution de la flore au cours de la maturation ont des profils relativement similaires.

2. Identification de la flore levure

Le tableau 1 mentionne la répartition des souches isolées selon les fabrications et les divers stades de l'affinage.

L'analyse a porté sur les trois fabrications 1, 2 et 3, soit au total 323 souches.

Les principales espèces suivantes ont été identifiées :

— *Kluyveromyces lactis* (Dombrowski) Van der Walt et sa forme imparfaite *Torulopsis sphaerica* (Hammer et Cordes) Lodder ;

— *Kluyveromyces fragilis* (Jorgensen) Van der Walt et sa forme asexuée *Candida pseudotropicalis* (Cast.) Basgal ;

— *Debaryomyces hansenii* (Zopf) Lodder et Kreger Van Rij et sa forme imparfaite *Torulopsis candida* (Saito) Lodder ;

Evolution de la flore levure au cours de la maturation du Camembert
(variations d'une série à l'autre)

fig. 1 : surface

fig. 2 : intérieur

TABLEAU 1

Répartition des souches de levures isolées à partir de différentes fabrications de fromages de Camembert

Stades de maturation (jours)	Série 1		Série 2		Série 3		Série 4		Série 5		Série 6	
	I	E	I	E	I	E	I	E	I	E	I	E
1 - 8 j	32	29	26	32	29	32	22	29	29	27	7	12
13 - 30 j	24	27	26	21	25	20	33	18	26	15	21	27
Total	56	56	52	53	54	52	55	47	55	42	28	39

I : intérieur du fromage.

E : extérieur du fromage

- *Saccharomyces cerevisiae* Hansen ;
- *Saccharomyces rouxii* Boutroux et sa forme asexuée *Torulopsis mogii* Vidal-Leiria ;
- *Torulopsis versatilis* (Etchells et Bell) Lodder et Kreger Van Rij.

La répartition de ces espèces entre les trois fabrications figure sur le tableau 2.

La flore levure du Camembert paraît donc être dominée par le groupe des *Kluyveromyces* et leurs formes imparfaites qui représentent plus de 60 p. 100 de la population. Viennent ensuite *Debaryomyces hansenii* (12 p. 100), *Saccharomyces cerevisiae* (9 p. 100), *Saccharomyces rouxii* (6 p. 100) et *Torulopsis versatilis* (4 p. 100).

Il convient cependant d'observer que, selon les fabrications, l'importance relative des diverses espèces apparaît très variable. Il en est notamment ainsi pour *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces rouxii* et *Kluyveromyces fragilis*.

A côté de ces espèces dominantes regroupant 270 souches, la présence de 12 autres espèces regroupant au total 19 souches a été mise en évidence ; parmi elles figurent : *Candida kefir*, *Brettanomyces anomalus*, *Saccharomyces italicus* (tab. 3). Signalons enfin que

TABLEAU 2

Répartition des principales espèces de levures isolées des fromages de différentes fabrications

Souches identifiées	Fabrication 1	Fabrication 2	Fabrication 3
<i>Kluyveromyces lactis</i>	18	21	9
<i>Torulopsis sphaerica</i>	6	16	48
<i>Kluyveromyces fragilis</i>	16	26	0
<i>Candida pseudotropicalis</i>	4	10	4
<i>Debaryomyces hansenii</i>	21	7	6
<i>Torulopsis candida</i>	2	0	0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	23	1	1
<i>Saccharomyces rouxii</i>	1	0	7
<i>Torulopsis mogii</i>	1	0	9
<i>Torulopsis versatilis</i>	5	5	3

34 souches n'ont pu être identifiées, leurs caractères cultureux, morphologiques et biochimiques, ne permettant pas de les classer.

3. Evolution qualitative de la flore levure

La répartition des différentes espèces de levures au cours de la maturation des fromages des trois fabrications est donnée dans les tableaux 4, 5 et 6.

Dans la fabrication 1, *Kl. lactis* est présente essentiellement à la surface de la pâte, dans la seconde phase de l'affinage (63 p. 100 du prélèvement) ; *D. hansenii* domine à l'intérieur du fromage en fin de maturation (58 p. 100), tandis que *Sacch. cerevisiae*, rencontrée d'ailleurs seulement dans cette fabrication, ne se trouve que dans les premiers stades, surtout à l'intérieur de la pâte (56 p. 100). Quant à *Kl. fragilis*, également présente au stade 1-8 j d'affinage, elle domine à la surface du fromage (52 p. 100).

TABLEAU 3

Espèces de levures trouvées en faible nombre dans les fromages de trois fabrications

Souches identifiées	Nombre de souches
<i>Candida kefir</i>	3
<i>Saccharomyces italicus</i>	2
<i>Brettanomyces anomalus</i>	3
<i>Torulopsis holmii</i>	1
<i>Rhodotorula lactosa</i>	1
Genre <i>Hansenula</i>	3
<i>Saccharomyces telluris</i>	1
<i>Saccharomyces bailii</i>	1
<i>Pichia bovis</i>	1
<i>Candida lipolytica</i>	1
<i>Kluyveromyces bulgaricus</i>	1

Dans la fabrication 2, *Kl. lactis* est particulièrement bien représentée au début de l'affinage surtout en surface (56 p. 100), *Kl. fragilis* conserve une bonne implantation à l'intérieur du fromage et il devient, en fin de maturation, l'espèce dominante de la flore superficielle ; *D. hansenii* est peu représentée.

Dans la fabrication 3, *Kl. lactis* se rencontre surtout du 13^e au 30^e j de maturation, tant à l'intérieur qu'à l'extérieur (80 p. 100 et 95 p. 100) ; *D. hansenii* est très peu abondante ainsi que *Kl. fragilis* qui n'est d'ailleurs représentée que par sa forme imparfaite *C. pseudotropicalis*. En revanche, on trouve en début d'affinage une autre espèce, *Sacch. rouxii* et sa forme imparfaite *T. mogii*, surtout localisée à l'intérieur du fromage (41 p. 100).

TABLEAU 4

Répartition des espèces de levures dans la fabrication 1 au cours de l'affinage des fromages

Espèces de levures		Stades de maturation (jours)				p. 100 du prélève- ment total
		1 - 8		13 - 30		
		Nombre de souches	p. 100 du prélève- ment	Nombre de souches	p. 100 du prélève- ment	
<i>Kluyveromyces lactis</i> et <i>Torulopsis sphaerica</i>	E	2	7	17	63	34
	I	1	3	4	17	9
<i>Kluyveromyces fragilis</i> et <i>Candida pseudotropicalis</i>	E	15	52	1	4	29
	I	2	6	2	8	7
<i>Debaryomyces hansenii</i> et <i>Torulopsis candida</i>	E	1	3,5	5	18,5	11
	I	3	9	14	58	30
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	E	4	14	0	0	7
	I	18	56	1	4	34
<i>Torulopsis versatilis</i>	E	2	7	1	4	5
	I	1	3	1	4	4
Espèces diverses	E	1	3,5	0	0	2
	I	6	19	2	8	14

E : extérieur.

I : intérieur.

On peut ainsi remarquer que si les principaux groupes se trouvent dans chacune des fabrications, leur répartition peut être très différente d'une série à l'autre (tab. 7).

TABLEAU 5

Répartition des espèces de levures dans la fabrication 2 au cours de l'affinage des fromages

Espèces de levures		Stades de maturation (jours)				p. 100 du prélève- ment total
		1 - 8		13 - 30		
		Nombre de souches	p. 100 du prélève- ment	Nombre de souches	p. 100 du prélève- ment	
<i>Kluyveromyces lactis</i> et <i>Torulopsis sphaerica</i>	E	18	56	4	19	41,5
	I	10	38,5	5	19	29
<i>Kluyveromyces fragilis</i> et <i>Candida pseudotropicalis</i>	E	4	12,5	9	43	24,5
	I	11	42	12	46	44
<i>Debaryomyces hansenii</i>	E	3	9	1	5	4
	I	2	8	1	4	6
<i>Torulopsis versatilis</i>	E	1	3	1	5	4
	I	0	0	3	11,5	6
Espèces diverses	E	4	12,5	2	9,5	11
	I	3	11,5	1	4	8

E : extérieur.

I : intérieur.

DISCUSSION

La flore levure des fromages de Camembert est abondante tout au long de la maturation.

Le nombre des levures est surtout important sur la croûte où la population varie entre 3×10^5 et 4×10^9 selon le stade d'affinage ; à l'intérieur de la pâte, il est beaucoup plus faible (3×10^3 à 1×10^7). On retrouve ici une observation déjà faite par l'un de nous (Lenoir,

TABLEAU 6

Répartition des espèces de levures dans la fabrication 3 au cours de l'affinage du fromage

Espèces de levures		Stades de maturation (jours)				p. 100 du prélève- ment total
		1 - 8		13 - 30		
		Nombre de souches	p. 100 du prélève- ment	Nombre de souches	p. 100 du prélève- ment	
<i>Kluyveromyces lactis</i> et <i>Torulopsis sphareica</i>	E	12	37,5	19	95	60
	I	6	21	20	80	48
<i>Kluyveromyces fragilis</i> et <i>Candida pseudotropicalis</i>	E	4	12,5	0	0	8
	I	0	0	0	0	0
<i>Debaryomyces hansenii</i>	E	3	9	1	5	8
	I	2	7	0	0	4
<i>Saccharomyces rouxii</i> et <i>Torulopsis mogii</i>	E	3	9	0	0	6
	I	12	41	0	0	22
<i>Torulopsis versatilis</i>	E	0	0	0	0	0
	I	2	7	1	4	5,5
Espèces diverses	E	3	9	0	0	6
	I	1	3,5	0	0	2

E : extérieur.

I : intérieur.

1962) lors d'une étude de la flore microbienne de ce type de fromage, à savoir que les rapports des nombres de levures à la surface et à l'intérieur reste, du début à la fin de l'affinage, assez peu différents de 100. Par ailleurs, dans l'une et l'autre études l'évolution quantitative de cette flore est comparable bien que le choix du milieu de dénombrement soit différent : malt agar, pH 3,5 et P.D.A. (Difco), pH 3,6. Il est ainsi confirmé que ces deux milieux présentent le même pouvoir sélectif vis-à-vis des organismes autres que les levures et moisissures (Hup et Stadhouders, 1972).

On peut aussi noter que l'évolution quantitative de la flore levure du Camembert se rapproche de celles mentionnées par Devoyod et Sponem (1970) sur le Roquefort et par Vergeade (1975)

TABLEAU 7

Répartition des principales espèces de levures en p. 100 du prélèvement au cours de l'affinage des fromages selon les différentes fabrications

Espèces de levures		Stade de maturation					
		1 - 8 j			13 - 30 j		
		fabrication 1	fabrication 2	fabrication 3	fabrication 1	fabrication 2	fabrication 3
<i>Kluyveromyces lactis</i> et <i>Torulopsis sphaerica</i>	E	7	56	37	63	19	95
	I	3	38,5	21	17	19	80
<i>Kluyveromyces fragilis</i> et <i>Candida pseudotropicalis</i>	E	52	12,5	12	4	43	0
	I	6	42	0	8	46	0
<i>Debaryomyces hansenii</i> et <i>Torulopsis candida</i>	E	3,5	9	9	18,5	5	5
	I	9	8	7	53	4	0

E : extérieur du fromage.

I : intérieur du fromage.

sur le Saint-Nectaire, mais elle diffère très sensiblement de l'évolution signalée par Ducastelle et Lenoir (1965) sur le Saint-Paulin, ces derniers auteurs ayant trouvé un peuplement en levures faible et restant plus ou moins constant, du début à la fin de l'affinage (10^3 à 10^5 germes par gramme de pâte).

L'étude taxonomique a permis de préciser la nature des espèces dominantes de la flore levure du fromage qui restait à ce jour mal connue. Les principales espèces présentes entrent dans les groupes qui avaient été partiellement signalés par Lenoir et Auberger (1966). Ce sont les espèces qui ont été le plus fréquemment rencontrées dans le Saint-Nectaire (Dale, 1972 ; Vergeade *et al.*, 1976), à l'intérieur du Roquefort (Devoyod et Sponem, 1970 ; Galzin *et al.*, 1970), dans le Saint-Paulin (Ducastelle et Lenoir, 1965) et dans le Cantal (Millet *et al.*, 1974).

Dans les fabrications de Camembert étudiées, *Kl. lactis*, *Kl. fragilis* et *D. hansenii* sont présentes. *Kl. lactis* et sa forme imparfaite *T. sphaerica* représentent le groupe globalement majeur (40 p. 100 de

la flore), la forme imparfaite étant largement dominante dans la fabrication 3. Le deuxième groupe principal est constitué par *Kl. fragilis* et *C. pseudotropicalis* mais ces espèces sont très inégalement réparties selon les fabrications et dans l'une d'elles elles ne sont présentes qu'en très faible proportion.

Le troisième groupe, celui de *D. hansenii* et *T. candida* est bien représenté dans une fabrication. En ce qui concerne *Sacch. cerevisiae* et *Sacch. rouxii* (et *T. mogii*) elles ne sont l'une et l'autre trouvées en proportion significative que dans une seule fabrication.

La présence de l'espèce *Sacch. rouxii* peut d'ailleurs paraître étonnante. Connue pour se développer sur différents produits riches en sucre, miel, hydromel, fruits confits..., cette espèce n'a pas, à notre connaissance, été signalée dans les fromages.

Quant aux espèces mineures (*T. versatilis*, *C. kéfir*, *Hansenula...*), il s'agit probablement de levures rarement présentes qui peuvent à la limite, être considérées comme n'appartenant pas à la flore normale du fromage.

Si l'on envisage la répartition des espèces en suivant le stade d'affinage et les parties interne ou superficielle du fromage on observe que dans l'ensemble *Kl. lactis* (et *T. sphaerica*) est plus nettement dominante à l'extérieur de la pâte et en fin d'affinage. Le groupe *Kl. fragilis*, assez régulièrement réparti, est présent en proportion relative plus élevée à l'extérieur du fromage en début d'affinage.

Quant au groupe *D. hansenii*, il est plus fortement représenté en fin de maturation, à l'intérieur de la pâte. On remarque cependant que, d'une fabrication à l'autre, il existe des variations importantes dans la répartition des espèces. Ainsi, dans l'une des fabrications, *Kl. lactis* est plus abondante au début de l'affinage qu'en fin de maturation alors qu'à ce stade *Kl. fragilis* domine en surface et à l'intérieur du fromage.

Résumé

Les levures représentent une part notable de la flore microbienne du Camembert et elles sont susceptibles de participer activement à l'affinage des fromages.

En vue de préciser la nature de cette flore, il a été procédé à une identification des espèces dominantes par prélèvement sur des fromages de lait cru réputés pour leurs qualités de texture, de saveur et d'arôme.

323 souches ont été isolées et identifiées selon les critères préconisés par Lodder.

La flore levure paraît être dominée par le groupe des *Kluyveromyces* et ses formes imparfaites qui représentent plus de 60 p. 100 de

la population. Viennent ensuite *Debaryomyces hansenii* (12 p. 100), *Saccharomyces cerevisiae* (9 p. 100), *Saccharomyces rouxii* (6 p. 100) et *Torulopsis versatilis* (4 p. 100). L'importance relative des diverses espèces apparaît cependant très variable selon les fabrications.

Finalement, la flore levure du Camembert est principalement formée par le groupe *Kl. lactis* - *Kl. fragilis* trouvé également dominant chez d'autres fromages.

Summary

Yeasts represent a substantial part of the bacterial flora of Camembert cheese. They might therefore actively participate in the ripening of cheeses.

In order to determine more accurately the nature of this flora, an identification of the major species was realized.

The strains of yeasts were isolated from Camembert made with raw milk coming from three Norman factories chosen for the quality and the regularity of their manufacturings.

A total of 323 strains were isolated and their identification was realized according to the criteria preconized by Lodder.

The yeasts of Camembert seems to be dominated by *Kluyveromyces* group and its imperfect forms constituting more than 60 p. 100 of the population. *Debaryomyces hansenii* (12 p. 100), *Saccharomyces cerevisiae* (9 p. 100), *Saccharomyces rouxii* (6 p. 100) and *Torulopsis versatilis* (4 p. 100) were also found.

The relative importance of the various species seemed to be highly variable from manufacturing to another.

Thus, the yeast flora of Camembert seems mainly to be formed by the *Kl. lactis* - *Kl. fragilis* group, which is also dominant in other cheeses.

Reçu pour publication en avril 1978.

Bibliographie

- BERNHART (E.) (1946). — Milieu corn meal agar. *Mycologia*, 38, 228.
DALE (G.) (1972). — Moisissures et levures de la flore du fromage de Saint-Nectaire. *Rev. Lait. Fr.*, 296, 199.
DEVOYOD (J.J.) et SPONEM (D.) (1970). — La flore microbienne du fromage de Roquefort. VI. Les levures. *Le Lait*, 498, 524.
DUCASTELLE (A.) et LENOIR (J.) (1965). — Contribution à l'étude de la flore microbienne du fromage de type Saint-Paulin. II. Ses espèces dominantes. *Le Lait*, 45 (448), 509.

- DUCLAUX (E.) (1883). — Principes de laiterie (Paris).
- EL ERIAN (1969). — Bacteriological studies on Limburger cheese. Meded-Landbouwhoghe-school, Wageningen, 12, 1.
- FOWELL (R. R.) (1952). — Sodium acetate agar as a sporulation medium for yeast. *Nature*, 170, 578.
- GALZIN (M.), GALZY (P.) et BRET (G.) (1970). — Etude de la flore de levure dans les fromages de Roquefort. *Le Lait*, 50 (491-492), 1.
- GUITTONNEAU (G.), KEILLING (J.) et DELAVAL (H.) (1939). — Les formes levures dans la flore superficielle des fromages de Camembert. *Le Lait*, 19, 338.
- HAMMER (B. W.) (1926). — Les levures et les produits de laiterie. *J. Dairy Sci.*, 9 (6), 507.
- HARTLEY (G. B.) et JEZESKI (J. J.) (1954). — The microflora of blue cheese slime. *J. Dairy Sci.*, 37, 436.
- HAUSLER (W. J.) (1972). — Standard methods for the examination of dairy products. American Public Health Association Ed., 13, 347 pp.
- HUESMANN (A.) (1926). — Sur la morphologie et la physiologie de quelques levures sauvages importantes en fromagerie. *Milch. Forschungen*, 3 (4), 313.
- HUP (G.) et STADHOUDERS (J.) (1972). — Comparison of media for the enumeration of yeasts and moulds in dairy products. *Neth. Milk Dairy J.*, 26, 131.
- KANAUCHI (T.), YOSHIOKA (Y.) et HAMAMOTO (M.) (1962). — Microbial studies on blue veined cheese. I. Microflora of blue veined cheese in ripening period. *Jap. J. Zootech. Sci.*, 32, 104.
- LENOIR (J.) (1962). — La flore microbienne du Camembert et son évolution au cours de la maturation. *C.R. Acad. Agric.*, 48, 392-399.
- LENOIR (J.) et AUBERGER (B.) (1966). — Contribution à l'étude de la flore microbienne du fromage de type Camembert. *C.R. XVII^e Cong. Int. Lait.*, D 395, 595.
- LODDER (J.) (1971). — The yeasts. A taxonomic study. North Holland Publishing Company, Amsterdam-London.
- MAZE (P.) (1910). — Technique fromagère. *Ann. Inst. Pasteur*, 24, 395.
- MILLET (L.), MELCION (D.) et DEVOYOD (J. J.) (1974). — La flore microbienne du fromage de Cantal fabriqué à partir de lait cru. III. Rôle des levures dans la maturation de la « Tome ». *Le Lait*, 54 (539-540), 616.
- PURKO (M.), NELSON (W. O.) et WOOD (W. A.) (1951). — The associative growth between certain yeasts and *Bacterium linens*. *J. Dairy Sci.*, 34, 699.
- SLOBODSKA-ZAYKOWSKA (N.) (1926). — L'action conservatrice des levures lactiques sur les bactéries lactiques. *Biochemische Zeitsch.*, 169, 77.
- SOZZI (T.) et SHEPPERD (O.) (1972). — Evolution de la composition chimique et de la flore microbienne du fromage de Vacherin au cours de la maturation du lait. *Le Lait*, 52, 203-219.
- TRUPER (E.) (1928). — Sur les levures faisant fermenter le lactose dans le lait. *Milchwirtsch. Forschungen*, 6, 351.
- VERGEADE (J.) (1975). — Etude des levures du fromage de Saint-Nectaire. *Thèse de Doctorat de troisième cycle* (Université de Clermont-Ferrand).
- VERGEADE (J.), GUIRAUD (J.), LARPENT (J. P.) et GALZY (P.) (1976). — Etude de la flore de levure du Saint-Nectaire. *Le Lait*, 56 (555-556), 275.
- WICKERHAM (L. J.) (1946). — A critical evaluation of the nitrogen assimilation tests commonly used in the classification of yeasts. *J. Bact.*, 52, 293.
- WICKERHAM (L. J.) et DUPRAT (E.) (1945). — A remarkable fission yeast, *Saccharomyces versatilis* nov. sp. *J. Bact.*, 50, 597.
- WICKERHAM (L. J.) et BURTON (K. A.) (1948). — Carbon assimilation tests for the classification of yeasts. *J. Bact.*, 56, 363.