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

par

J. L. SCHMIDT et J. LENOIR*

(avec la collaboration technique de Michèle SCHMIDT)

INTRODUCTION

Dans une publication antérieure, nous avons souligné l'importance de la flore levure dans les fromages à pâte molle de type Camembert (Schmidt et Lenoir [11]). Les fromages étudiés étaient fabriqués à partir de lait cru et provenaient de cinq usines de Normandie choisies pour la qualité et la régularité de leur production.

Les résultats obtenus ont mis en évidence une population de levures importante, en surface du fromage, dès les premiers jours de fabrication (4.10^6 à 2.10^8 par gramme le quatrième jour), cette population proliférant activement jusqu'aux environs du dixième jour (5.10^8 à 3.10^9). A l'intérieur du fromage, les levures se développent sensiblement moins, et il faut attendre le quatorzième jour pour noter une population de 2.10^5 à 1.10^7 par gramme de pâte. D'une usine à l'autre, les profils représentant l'évolution des levures sont relativement similaires ; en revanche, il a été observé que leur nombre pouvait être variable.

L'identification de cette flore a été pratiquée sur les prélèvements provenant de trois usines, l'importance relative des diverses espèces est variable selon l'origine.

Cependant, la flore levure du Camembert était dominée par le groupe des *Kluyveromyces*, *Kl. lactis*, *Kl. fragilis* et leurs formes imparfaites, *Torulopsis sphaerica* et *Candida pseudotropicalis*, qui représentent plus de 60 p.100 de la population. Venaient ensuite les espèces *Debaryomyces hansenii* (12 p.100), *Saccharomyces cerevisiae* (9 p.100), *Saccharomyces rouxii* (6 p.100) et *Torulopsis versatilis* (4 p.100).

---

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

La présente étude prolonge la précédente ; elle vise, en disposant d'un échantillonnage plus large et plus représentatif, à préciser l'identité des espèces majeures de levures présentes à la surface et à l'intérieur du fromage au cours de la maturation.

Cent quatre-vingt-dix-neuf souches, isolées à partir de fabrications issues de deux nouvelles usines, ont été étudiées, et cent quatre-vingt-treize souches ont pu être identifiées.

L'ensemble de la collection de levures du laboratoire compte à présent quatre cent quatre-vingt-deux souches identifiées sur cinq cent vingt-trois isolées.

Les fromages étudiés proviennent de deux grandes régions laitières de Normandie, le Pays d'Auge (région A : séries 1, 3 et 5) et la région d'Isigny-sur-Mer (région B : séries 2 et 4).

MATERIELS ET METHODES

Les méthodes de dénombrement et d'isolement des souches prélevées à divers stades de l'affinage ont été précédemment décrites (Schmidt et Lenoir, [11]).

L'identification des espèces a été conduite sur la base des classifications de Lodder [8] et de Barnett et Pankhurst [1]. Les caractères culturels, morphologiques, biochimiques et physiologiques étudiés sont analogues à ceux mentionnés dans notre note antérieure.

RESULTATS

1. Identification de la flore levure

Dans les deux fabrications analysées (4 et 5) les espèces suivantes ont été identifiées :

- *Saccharomyces italicus* Castelli ;
- *Kluyveromyces lactis* (Dombrowski) Van der Walt et sa forme imparfaite *Torulopsis sphaerica* (Hammer et Cordes) Lodder ;
- *Debaryomyces hansenii* (Zopf) Lodder et Kreger Van Rij ;
- *Kluyveromyces fragilis* (Jørgensen) Van der Walt et sa forme asexuée *Candida pseudotropicalis* (Castellani) Basgal ;
- *Kluyveromyces bulgaricus* (Santa Maria) Van der Walt.

La répartition des espèces entre les deux fabrications figure sur le tableau 1. Comme il a été précédemment noté, on observe que l'importance relative des diverses espèces est variable selon la fabrication. Ainsi *Kluyveromyces lactis* et *Torulopsis sphaerica* représentent 35 p.100 de la population dans la fabrication 4, seulement

TABLEAU 1

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

Espèces identifiées	Nombre de souches	
	Fabrication 4	Fabrication 5
<i>Saccharomyces italicus</i>	48	30
<i>Kluyveromyces lactis</i>	10	0
<i>Torulopsis sphaerica</i>	26	9
<i>Debaryomyces hansenii</i>	0	31
<i>Kluyveromyces fragilis</i>	3	4
<i>Candida pseudotropicalis</i>	1	6
<i>Kluyveromyces bulgaricus</i>	5	7

TABLEAU 2

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

Espèces identifiées	Nombre de souches
<i>Torulopsis versatilis</i>	3
<i>Torulopsis bovina</i>	3
<i>Candida lambica</i>	2
<i>Candida valida</i>	2
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1
<i>Torulopsis holmii</i>	1
<i>Rhodotorula sp.</i>	1

10 p. 100 dans la fabrication 5 ; *Debaryomyces hansenii*, absent en 4, est présent au taux de 34 p. 100 en 5.

A côté de ces espèces dominantes, qui regroupent cent-quatre-vingts souches, treize souches appartiennent à sept espèces différentes (tab. 2).

2. Evolution qualitative de la flore levure

La répartition des différentes espèces de levures au cours de la maturation des fromages des deux fabrications est donnée dans les tableaux 3 et 4.

TABLEAU 3

Répartition des espèces au cours de l'affinage des fromages de la fabrication 4

Espèces		Stades de maturation (jours)				p. 100 du prélève- ment total
		1 - 8 j		13 - 32 j		
		Nombre de souches	p. 100 du prélève- ment	Nombre de souches	p. 100 du prélève- ment	
<i>Saccharomyces italicus</i>	E	4	14	13	72	36
	I	7	32	24	73	56
<i>Kluyveromyces lactis</i> et <i>Torulopsis sphaerica</i>	E	16	55	4	22	42,5
	I	12	54,5	4	12	29
<i>Kluyveromyces bulgaricus</i>	E	3	10	0	0	6
	I	1	4,5	1	3	3,5
<i>Kluyveromyces fragilis</i> et <i>Candida pseudotropicalis</i>	E	2	7	1	5,5	6
	I	1	4,5	0	0	2
<i>Torulopsis versatilis</i>	E	0	0	0	0	0
	I	0	0	3	9	5,5
Espèces diverses	E	4	14	0	0	8,5
	I	1	4,5	1	3	3,5

E : Extérieur du fromage.

I : Intérieur du fromage.

TABLEAU 4

Répartition des espèces au cours de l'affinage des fromages de la fabrication 5

Espèces		Stades de maturation (jours)				p. 100 du du prélève- ment total
		1 - 8 j		13 - 32 j		
		Nombre de souches	p. 100 du prélève- ment	Nombre de souches	p. 100 du prélève- ment	
<i>Debaryomyces hansenii</i>	E	11	41	6	40	40,5
	I	14	48,5	0	0	25,5
<i>Saccharomyces italicus</i>	E	4	15	2	13,5	14,5
	I	3	10,5	21	81	43,5
<i>Kluyveromyces fragilis</i> et <i>Candida pseudotropicalis</i>	E	5	18,5	2	13,5	16,5
	I	2	7	1	4	5,5
<i>Torulopsis sphaerica</i>	E	1	4	4	27	12
	I	4	14	0	0	7,5
<i>Kluyveromyces bulgaricus</i>	E	2	7,5	1	6,5	7
	I	3	10,5	1	4	7,5
Espèces diverses	E	1	4	0	0	2,5
	I	1	3,5	2	8	5,5

E : Extérieur du fromage.

I : Intérieur du fromage.

Il apparaît que, dans la fabrication 4, deux espèces dominent. *Saccharomyces italicus*, déjà présente en début d'affinage à l'intérieur de la pâte (32 p. 100), forme, dans la seconde phase de la maturation, la majeure partie de la flore levure, tant à la surface (72 p. 100) qu'à l'intérieur du fromage (73 p. 100). *Kluyveromyces lactis* et sa forme anascosporogène, *Torulopsis sphaerica*, sont également bien représentées en début d'affinage, que ce soit sur les parties superficielles ou internes de la pâte (55 p. 100), et elles conservent une certaine implantation du treizième au trentième jour de maturation. En revanche, *Kluyveromyces fragilis* est peu abondante et l'espèce *Debaryomyces hansenii* est absente.

TABLEAU 5

Les principales espèces de levures présentes au cours de l'affinage des fromages selon les fabrications (en p. 100 du prélèvement)

Espèces		Stades de maturation (jours)									
		1 - 8 j					13 - 32 j				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<i>Kluyveromyces lactis</i> et <i>Torulopsis sphaerica</i>	E	7	56	37,5	55	4	63	19	95	22	27
	I	3	38,5	21	54,5	14	17	19	80	12	0
<i>Saccharomyces italicus</i>	E	0	0	0	14	15	0	0	0	72	13,5
	I	6	0	0	32	10,5	0	0	0	73	81
<i>Kluyveromyces fragilis</i> et <i>Candida pseudotropicalis</i>	E	52	12,5	12,5	7	18,5	4	43	0	5,5	13,5
	I	6	42	0	4,5	7	8	46	0	0	4
<i>Debaryomyces hensenii</i> et <i>Torulopsis candida</i>	E	3,5	9	9	0	41	18,5	5	5	0	40
	I	9	8	7	0	48,5	58	4	0	0	0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	E	14	0	0	0	0	0	5	0	0	0
	I	56	0	3,5	4,5	0	4	0	0	0	0
<i>Saccharomyces rouxii</i> et <i>Torulopsis mogii</i>	E	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0
	I	8	0	41	0	0	0	0	0	0	0
<i>Torulopsis versatilis</i>	E	7	3	0	0	0	4	5	0	0	0
	I	3	0	7	0	0	4	11,5	4	9	0
<i>Kluyveromyces bulgaricus</i>	E	0	0	3	10	7,5	0	0	0	0	7
	I	0	0	0	4,5	10,5	0	0	0	3	7,5
Espèces diverses	E	16,5	12,5	6	14	4	10,5	9,5	0	0	0
	I	9	11,5	0	0	3,5	9	4	0	3	8

1, 2, 3, 4, 5 : Numéro d'ordre des différentes fabrications.

E : Extérieur du fromage ; I : Intérieur du fromage.

Dans la fabrication 5, la diversité des espèces est plus grande. *Debaryomyces hansenii* domine à la surface (41 p. 100) et à l'intérieur de la Pâte (48 p. 100) dans les premiers stades mais, du treizième au trente-deuxième jour, elle ne subsiste plus qu'en surface. L'espèce *Saccharomyces italicus*, faiblement implantée en début d'affinage, devient très largement dominante en fin de maturation au sein de la pâte (81 p. 100). *Kluyveromyces fragilis* et sa forme imparfaite, *Candida pseudotropicalis*, sont essentiellement présentes à la partie superficielle dans les deux phases de l'affinage (18 et 13 p. 100). Enfin, *Kluyveromyces lactis*, qui n'est représentée que par sa forme asexuée, *Torulopsis sphaerica*, apparaît, dans la seconde phase, localisée en surface (27 p. 100).

3. Récapitulation de la flore levure du Camembert

Le tableau 5 présente les principales espèces de levures rencontrées au cours de l'affinage des fromages dans les cinq fabrications que nous avons étudiées. On peut ainsi remarquer que les deux principaux groupes, *Kluyveromyces* et *Debaryomyces* se retrouvent pratiquement dans toutes les fabrications, mais leur répartition peut être différente d'une série à l'autre. En ce qui concerne les trois espèces de *Saccharomyces* identifiées, il apparaît que leur implantation, qui peut être massive, n'est réalisée que dans certaines fabrications et plutôt à l'intérieur de la pâte.

On peut finalement relever (tab. 6) que *Kluyveromyces lactis* et sa forme imparfaite *Torulopsis sphaerica* sont les espèces majeures de la flore levure du Camembert (34 p. 100 de la population). Se situent ensuite, et sensiblement au même seuil voisin de 15 p. 100, les espèces *Saccharomyces italicus*, *Kluyveromyces fragilis* et *Candida pseudotropicalis*, *Debaryomyces hansenii* et *Torulopsis candida*. Enfin, un dernier groupe est constitué de *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces rouxii*, *Torulopsis versatilis* et *Kluyveromyces bulgaricus*, chacune de ces espèces représentant 3 à 5 p. 100 de la flore levure totale.

DISCUSSION

Cette étude taxonomique confirme les premiers résultats que nous avons enregistrés (Schmidt et Lenoir, [11]). En effet, dans les deux nouvelles fabrications analysées (4 et 5), se retrouve la même diversité de flore que dans les fabrications déjà étudiées (1 à 3). Ainsi, *Kluyveromyces lactis* et *Torulopsis sphaerica* sont constamment présentes (tab. 3 et 4). *Debaryomyces hansenii* est bien représentée dans l'une des séries, alors que *Kluyveromyces fragilis* et *Candida pseudotropicalis* ne sont que faiblement implantées. *Saccharomyces italicus*, espèce majeure des fabrications 4 et 5, n'avait été jusqu'ici trouvée qu'en petit nombre. On peut cependant observer que cette

TABLEAU 6

Identité des espèces de levures présentes dans les cinq fabrications
de fromages de Camembert étudiés

Espèces identifiées	Nombre de souches	p. 100 des souches identifiées
<i>Kluyveromyces lactis</i> <i>Torulopsis sphaerica</i>	58 163 105	12 33,8 21,8
<i>Saccharomyces italicus</i>	80	16,6
<i>Kluyveromyces fragilis</i> <i>Candida pseudotropicalis</i>	49 74 25	10,2 15,4 5,2
<i>Debaryomyces hansenii</i> <i>Torulopsis candida</i>	65 67 2	13,5 13,9 0,4
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	26	5,4
<i>Saccharomyces rouxii</i> <i>Torulopsis mogii</i>	8 18 10	1,7 3,7 2,1
<i>Torulopsis versatilis</i>	16	3,3
<i>Kluyveromyces bulgaricus</i>	13	2,7
Espèces diverses	25	5,2
Total	482	100

espèce est considérée par Lodder [8] comme très proche de *Saccharomyces cerevisiae* et les réponses aux principaux critères d'identification, caractères cultureux et morphologiques, aptitude à la formation d'ascospores et de filaments mycéliens, sont très voisins. Selon la grille d'identification de Barnett et Pankhurst [1], les différences entre les deux espèces reposent principalement sur les tests d'assimilation et de fermentation du raffinose ; mais, ces auteurs considèrent que les validités de ces deux tests sont relativement faibles (respectivement 27 et 6,4 p. 100 par rapport à la validité du test d'assimilation du maltose prise comme référence = 100). Une parenté aussi étroite autorise à classer les deux espèces dans un groupe unique, et la récente classification des levures proposées par Barnett *et al.* [2] les regroupe sous le nom de *Saccharomyces cerevisiae*.

Une autre espèce rencontrée dans les fabrications 4 et 5, en proportion non négligeable, est *Kluyveromyces bulgaricus*. Elle s'appa-

TABLEAU 7

Répartition des principales espèces de levures isolées des fromages de différentes fabrications (en p. 100 du prélèvement)

Espèces identifiées	1	2	3	4	5
<i>Kl. lactis</i> / <i>T. sphaerica</i> <i>Kl. fragilis</i> / <i>C. pseudotropicalis</i> et <i>Kl. bulgaricus</i>	41,9	78,7	67,8	44,1	28,6
<i>D. hansenii</i> <i>S. italicus</i> et <i>S. cerevisiae</i>	45,7	8,5	7,8	48	67
<i>S. rouxii</i> / <i>T. mogii</i>	1,9	0	17,8	0	0
<i>T. versatilis</i>	4,8	5,3	3,3	2,9	0
Espèces diverses	5,7	7,4	3,3	4,9	4,4
Total des souches identifiées	105	94	90	102	91

1, 2, 3, 4 et 5 : Numéro d'ordre des différentes fabrications.

rente, au plan physiologique, à *Kluyveromyces fragilis* ; elle s'en distingue essentiellement par la forme des ascospores et elle avait été décrite par Santa Maria [10] comme *Saccharomyces fragilis* var. *bulgaricus*.

Si l'on envisage la répartition des espèces suivant, d'une part, le stade d'affinage et, d'autre part, les parties internes ou superficielles du fromage, on observe que, dans l'ensemble, *Saccharomyces italicus* est plus nettement dominante en fin d'affinage. Pour les autres espèces, la répartition paraît variable selon les fabrications et aucune règle ne peut être dégagée. *Debaryomyces hansenii*, par exemple, est présente dans une série, tant à l'intérieur qu'à l'extérieur, au stade 1-8 j, et seulement à la surface du fromage au stade 13-32 j, alors qu'elle est absente dans la seconde série.

En considérant l'ensemble des résultats des identifications effectuées sur les cinq fabrications étudiées (tab. 5), il paraît donc difficile de dégager de grandes tendances dans l'implantation, en surface ou à l'intérieur du fromage et, selon le stade de maturation, d'une espèce ou même d'un groupe d'espèces apparentées.

Compte tenu des différences des milieux naturels des deux régions concernées et des caractères de « cru » de leurs produits laitiers,

il était permis de penser que les flores levures locales présenteraient, chacune, des profils originaux. A l'analyse du tableau 5, la notion de « niche levurienne » ne paraît pas évidente.

Les principales espèces identifiées entrent dans les groupes qui avaient été partiellement reconnus par Lenoir et Auberger [7] dans leur étude sur la flore du Camembert. Ce sont également celles qui ont été le plus fréquemment rencontrées dans le Saint-Nectaire (Dale [3] ; Vergeade *et al.* [12]), à l'intérieur du Roquefort (Devoyod et Sponem [4] ; Galzin *et al.* [6], dans le Saint-Paulin (Ducastelle et Lenoir [5]) et dans le Cantal (Millet *et al.* [9]).

Finalement, en se référant aux résultats obtenus sur les cinq fabrications étudiées et en regroupant les espèces apparentées, on peut remarquer que la population en levures du Camembert paraît être constituée « d'une flore de fond » à laquelle appartient un petit nombre d'espèces du groupe *Kluyveromyces* (tab. 7). A côté de cette flore, non toujours dominante, on relève ce que l'on peut appeler des « touches » particulières, apportées par l'importance relative du groupe *Debaryomyces-Saccharomyces* et, parfois, la présence d'une espèce donnée, telle *Saccharomyces rouxii*.

Résumé

La nature de la flore levure du fromage de Camembert a été précisée sur deux nouvelles fabrications. Cent quatre-vingt-treize souches ont été isolées et identifiées selon les critères préconisés par Lodder, Barnett et Pankhurst. Dans ces fabrications, cette flore paraît être dominée par *Saccharomyces italicus* ainsi que par *Kluyveromyces lactis* et sa forme imparfaite *Torulopsis sphaerica*. L'espèce *Debaryomyces hansenii* est également bien représentée.

Finalement, après analyse de la flore levure de cinq fabrications et identification de quatre cent quatre-vingt-deux souches prélevées à différents stades de l'affinage, les espèces principalement rencontrées, malgré les variations que l'on peut constater d'une série à l'autre, sont *Kl. lactis*/*T. sphaerica*, *Kl. fragilis*/*C. pseudotropicalis*, *D. hansenii* ainsi que le groupe des *Saccharomyces* (*S. italicus* et *S. cerevisiae*).

Summary

STUDY OF THE YEAST FLORA COMPOSITION OF CAMEMBERT CHEESE

The yeast flora composition of Camembert cheese was precised from two new manufacturings.

193 strains were isolated and their identification was made according to the criteria recommended by Lodder and by Barnett and Pankhurst.

In these cheesemakings, the yeast flora seemed to be dominated by *S. italicus* and also by *Kl. lactis* and its imperfect form *T. sphaerica*. The species *D. hansenii* is also well represented.

Finally, after analysis of the yeast flora from five different lots, 482 strains, sampled at different periods of ripening, were identified.

The main species found, despite fluctuations from one production to another, were *Kl. lactis*/*T. sphaerica*, *Kl. fragilis*/*C. pseudotropicalis*, *D. hansenii*, as *Saccharomyces* group (*S. italicus* and *S. cerevisiae*).

Reçu pour publication en mars 1980.

Bibliographie

- [1] BARNETT (J. A.) and PANKHURST (R. J.) (1974). — A new key to the yeasts. North Holland Publishing Company, Amsterdam-London.
- [2] BARNETT (J. A.), PAYNE (R. W.) and YARROW (D.) (1979). — A guide to identifying and classifying yeasts. Cambridge University Press, Cambridge.
- [3] DALE (G.) (1972). — Moisissures levures du fromage de Saint-Nectaire. *Rev. Lait. Fr.*, 296, 199.
- [4] DEVOYOD (J. J.) et SPONEM (D.) (1970). — La flore microbienne du fromage de Roquefort. VI. Les levures. *Le Lait*, 498, 524.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] LODDER (J.) (1971). — The yeasts. A taxonomic study. North Holland Publishing Company, Amsterdam-London.
- [9] 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.
- [10] SANTA MARIA (J.) (1956). — *Annales Inst. Nac. Invest. Agron.*, 5, 163. Cité par Lodder (J.) (1971), 332-334.
- [11] SCHMIDT (J. L.) et LENOIR (J.) (1978). — Contribution à l'étude de la flore levure du fromage de Camembert. Son évolution au cours de la maturation (I). *Le Lait*, 58 (577), 355.
- [12] 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.