

## MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

### LES FORMES LEVURES DANS LA FLORE SUPERFICIELLE DES FROMAGES DE CAMEMBERT (2)

Travail du Laboratoire national des Industries laitières (3)

par

G. GUITTONNEAU

Directeur

J. KEILLING

Directeur auxiliaire

H. DELAVAL

Préparateur

#### INTRODUCTION

Dès 1889, E. DUCLAUX a bien défini le rôle de la flore superficielle dans la maturation des fromages dits « moisissés » des types « Brie » ou « Camembert » [1]. A la même époque, DUCLAUX écrivait par ailleurs que dans tous les laits qui s'altèrent, dans tous les fromages en voie de fabrication, on trouve le ferment lactique et diverses espèces de mycodermes.

En 1910, dans sa Technique fromagère, MAZÉ [4] a excellemment précisé les premières vues de DUCLAUX sur la maturation des fromages moisissés et il a notamment indiqué que les mycodermes sont des constituants normaux de la flore fongique des fromages de Brie, de Camembert et de Coulommiers. Trois espèces, se distinguant par leurs caractères morphologiques et par l'aspect des cultures, ont été isolées par ce savant. Mais ayant reconnu que les mycodermes ne sont que des agents de combustion peu actifs de l'acide lactique, MAZÉ n'a pas cru devoir s'arrêter longuement sur leur étude. Les différents auteurs qui, par la suite, se sont occupés de la question ont adopté le même point de vue et ils désignent les formes levures qu'ils ont trouvées sur les fromages moisissés soit sous la dénomination de « mycodermes », soit sous celle de « torulas ».

Au cours de ces dernières années, l'étude des levures rencontrées dans le lait et les produits laitiers a fait l'objet de plusieurs mémoires. Signalons notamment ceux de H. REDFIELD (1922) [5], SLOBODSKA

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

(2) Travail publié dans les « Annales de Technologie » du Ministère de l'Agriculture (Premier fascicule).

(3) Ce mémoire, écrit dès 1934, n'avait pu être publié jusqu'à ce jour pour des raisons indépendantes de notre volonté. Les recherches qui y sont présentées et interprétées ont été effectuées de 1931 à 1933. Les rapports annuels sur le fonctionnement de l'Institut des recherches agronomiques en 1931 (page 286), 1932 (page 324) et 1933 (page 173) les ont déjà résumées dans leurs parties essentielles.

ZAYKOWSKA (1926) [6], HUESMANN (1926) [3], HAMMER (1926) [2], TRUPER (1928) [7]. Mais dans ces différents travaux on ne trouve aucune indication précise sur le rôle que peuvent jouer les micro-organismes étudiés dans la flore superficielle des fromages moisis. Tout au plus peut-on en dégager la notion que les levures faisant fermenter le lactose doivent, d'une manière générale, être considérées comme nuisibles aussi bien à cause des dégagements gazeux qu'elles provoquent qu'en raison des odeurs et des goûts désagréables que leur développement a tendance à provoquer dans les produits laitiers en général et dans les fromages en particulier.

De la brève revue bibliographique qui précède, on peut donc conclure que, dans l'état actuel de nos connaissances, nous manquons de renseignements précis sur les formes de levures qui apparaissent dans la flore superficielle des fromages moisis et notamment des camemberts. Il y a là dans la microbiologie laitière une regrettable lacune. Les recherches rapportées dans ce mémoire tendent à la combler.

L'objet de notre travail ainsi défini, il nous faut maintenant préciser les conditions dans lesquelles il a été réalisé.

### **Conditions générales de nos recherches.**

A la surface d'un fromage comme le Camembert, les proliférations microbiennes peuvent s'enchevêtrer de manière différente suivant les conditions de milieu qui leur sont offertes. Lorsqu'on veut les observer avec la préoccupation de définir un phénomène industriellement normal, il est essentiel de ne s'adresser qu'à des produits dont la qualité ne saurait être mise en doute. Cette prescription a été scrupuleusement observée dès l'origine de nos recherches.

Au moment où celles-ci furent entreprises (1931) l'un de nous assurait depuis près de dix ans la direction technique de deux fromageries normandes réputées que nous désignerons par la suite par les symboles O. et Cy. Le travail de ces fromageries avait été organisé de telle sorte que les fabrications ne laissaient rien à désirer au point de vue de la régularité de leur qualité. Les échantillons destinés aux études de laboratoire ont d'ailleurs toujours été choisis dans des lots présumés d'excellent choix d'après l'allure de leur égouttage, et la vérification a été faite lors de la vente que ces présomptions étaient justifiées. Toutes nos observations de base ont ainsi été relevées sur des Camemberts normands de premier choix.

Nous n'avons pas manqué de vérifier ensuite que les résultats auxquels nous avait conduit ce travail initial se confirmaient pour d'autres fromageries également très réputées, et situées aussi

bien en Normandie que dans d'autres régions fromagères françaises. Cette constatation nous donnait le droit de réduire le cadre de notre exposé aux observations recueillies dans les fromageries O. et Cy.

### I. SUR LA PRÉDOMINANCE DES FORMES LEVURES DANS LA PREMIÈRE PHASE DE LA MATURATION

Durant près de deux années, à intervalles réguliers, nous avons examiné, tant au point de vue bactériologique, qu'au point de vue chimique, des fromages provenant des exploitations O. et Cy mentionnées dans notre introduction.

a) **La première évolution de la flore fongique superficielle.** — La flore superficielle d'un grand nombre de fromages fabriqués en différentes saisons a été soumise, chaque jour, à un examen microscopique direct sur préparations obtenues par simple impression ou sur frottis. Les impressions étaient réalisées en appliquant fortement une lame sur la surface du caillé. Frottis et impressions étaient fixés à chaud, dégraissés au xylol, puis colorés soit au bleu de méthylène en solution aqueuse saturée, soit à la fuchsine phéniquée de Ziehl. Après lavages les préparations étaient examinées au microscope.

Afin de bien préciser l'influence du salage sur l'évolution de la flore superficielle, nous avons à diverses reprises examiné parallèlement deux fromages de même âge et de même origine, l'un salé, l'autre non salé. Nous avons ainsi constaté que, dès que la surface du caillé s'est asséchée, vers la fin de l'égouttage, on peut noter une tendance générale à l'envahissement par les formes « oïdium » accompagnées de formes « levures ». Mais, le salage intervenant, la marche de l'évolution microbienne ainsi amorcée se trouve bouleversée. Elle est, tout d'abord, partiellement paralysée par l'application massive du sel dans lequel les microorganismes se trouvent enrobés, puis le sel en excès dans les couches superficielles se répartit, par diffusion, dans toute la masse du caillé et les formes levures, reprenant alors leur activité, ne tardent pas à recouvrir la surface du fromage d'une couche à peu près continue. C'est alors que se répand, dans les hâloirs, « l'odeur de pommes » si recherchée des praticiens. Ayant ainsi envahi le terrain, les formes levures en restent entièrement maîtresses pendant 5 à 6 jours. Au bout de ce temps, le *Penicillium candidum* dont les spores ont eu le temps de germer vient les enserrer progressivement dans son feutrage mycélien et ne tarde pas à se substituer à elles.

Il nous est apparu qu'il importait de préciser les données du problème posé par ces simples observations par une étude aussi approfondie que possible de la flore microbienne qui avait ainsi

retenu notre attention. C'est dans ce but que nous avons réalisé sur lactosérum gélosé, à 20° C., un certain nombre d'isolements à partir de Camemberts frais et salés, des usines O. et Cy.

Les colonies microbiennes qui se développaient dans ces conditions étaient examinées au microscope afin de déterminer la forme des microorganismes qui les composaient.

A titre d'exemple nous rapporterons dans le Tableau I le résultat sommaire d'une série d'isolements poursuivis en janvier et février 1932, sur des Camemberts frais et salés.

TABLEAU I  
ETUDE DE LA FLORE SUPERFICIELLE DES FROMAGES FRAIS ET SALÉS

Fromagerie d'origine	Age du fromage au moment de l'isolement (Jours)	Nombre total de colonies	Oidium	Mycodermes	Formes levures
O. ....	3	169	0	0	169
O. ....	7	80	0	3	77
O. ....	10	84	0	0	84
Cy ....	6	75	0	2	73
Cy ....	10	64	2	1	61
Cy ....	12	95	3	0	92

La flore superficielle de la première phase de la maturation est donc composée, presque en totalité, de formes levures.

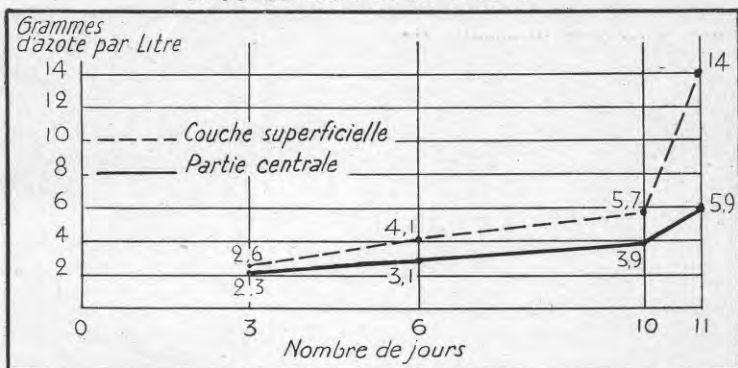
**b) Premières variations chimiques enregistrées dans le liquide imprégnant le fromage.** — Périodiquement, nous avons extrait de fromages de divers âges, par une forte pression, un jus clair qui, soigneusement filtré, fut soumis à l'analyse.

A titre d'exemple, nous reproduisons sous forme de graphiques (graphiques I, II et III) les chiffres obtenus par l'analyse de Camemberts fabriqués le 7 décembre et salés le 9 décembre 1931. Pour mettre en évidence, dans la mesure du possible, l'influence propre de la flore superficielle, nous avons analysé séparément les liquides extraits par pression de la couche périphérique et ceux provenant de la fraction centrale.

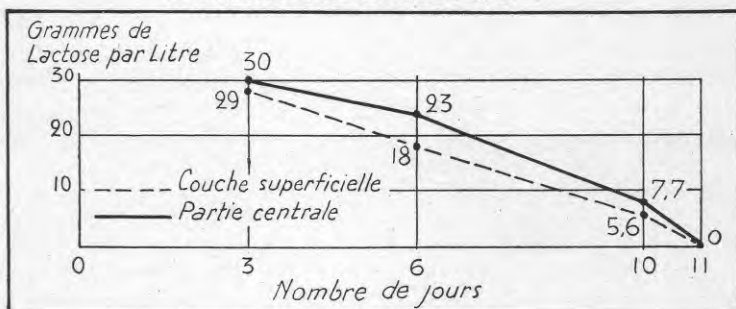
De l'examen des graphiques on peut déduire ce qui suit :

1. Jusqu'au dixième jour après la fabrication, le développement de la flore superficielle n'exerce pas d'action sensible sur la marche de la solubilisation de l'azote du caillé.

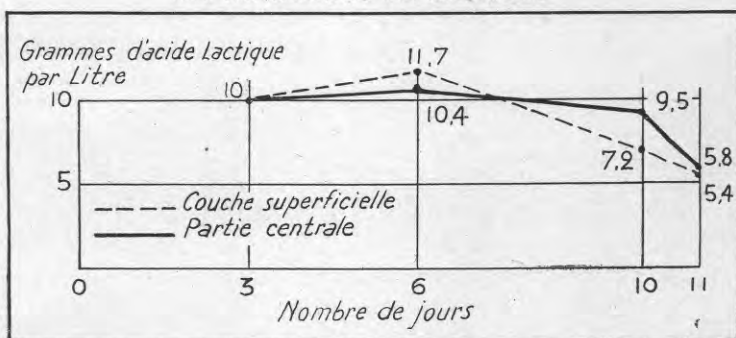
## I SOLUBILISATION DE L'AZOTE



## II DISPARITION DU LACTOSE



## III VARIATIONS DE L'ACIDITÉ



2. Au cours de la première semaine qui suit la fabrication on observe une disparition progressive et régulière du lactose, cependant que l'acidité du liquide qui baigne le caillé demeure voisine de

100° Dornic, c'est-à-dire à la limite de l'acidité que produisent les ferments lactiques poussant dans ces conditions de température.

Pour compléter les indications des graphiques ajoutons que les jus extraits des fromages au cours de ce premier stade renferment, à peu près constamment, de l'alcool en quantité non négligeable, et que ces fromages contiennent en outre des traces d'acétate d'éthyle facilement reconnaissable à son odeur caractéristique rappelant celle de la pomme.

c) **Idée d'une phase initiale de la maturation en rapport avec les formes levures superficielles.** — Il est évidemment indiqué de mettre en cause les formes levures qui envahissent toute la surface du caillé frais et salé dans le phénomène de la disparition du lactose qui se manifeste pendant la première phase de l'affinage. La formation d'alcool et d'acétate d'éthyle cadre bien avec cette manière de voir.

Nous avons complété cette première notion par des études plus approfondies sur les formes levures de la microflore superficielle des Camemberts. Ces études font l'objet des deuxième et troisième parties du présent mémoire.

## II. ETUDE GÉNÉRALE SUR LES FORMES LEVURES DE LA FLORE SUPERFICIELLE INITIALE

a) **Groupement général des souches de levures en types physiologiques.** — Avant d'entreprendre une étude détaillée des principaux types de microorganismes isolés, nous avons jugé utile de les grouper tout d'abord en différents types physiologiques d'après leur action sur divers sucres.

Les souches pures ont été cultivées sur eau de touraillon ou sur lactosérum contenant 5% de lactose, de saccharose, de glucose ou de lévulose et nous avons déterminé, après 45-50 jours, la dose de sucre restant. Le tableau II reproduit les résultats obtenus dans ces essais. Nous avons représenté dans ce tableau par :

- +++ la destruction totale du sucre,
- ++ la destruction partielle quoiqu'importante,
- + la destruction très faible.

TABLEAU II  
 GROUPEMENT DES SOUCHES DE LEVURES SUPERFICIELLES  
 EN TYPES PHYSIOLOGIQUES

Origine et désignation des souches	Sucres soumis à l'action des microorganismes			
	Lactose	Saccharose	Glucose	Lévulose
Cy <sup>1</sup> .....	+++	+++	+++	+++
Cy <sup>3</sup> .....	+	++	++	++
Cy <sup>4</sup> .....	+++	+++	+++	+++
Cy <sup>6</sup> .....	+	++	+++	++
Cy <sup>7</sup> .....	+++	+++	+++	+++
Cy <sup>9</sup> .....	+	++	++	++
Cy <sup>17</sup> .....	0	+	++	++
O <sup>1</sup> .....	+++	+++	+++	+++
O <sup>3</sup> .....	+++	+++	+++	+++
O <sup>5</sup> .....	+++	+++	+++	+++
O <sup>12</sup> .....	+++	+++	+++	+++
O <sup>15</sup> .....	+++	+++	+++	+++
Ob .....	+	++	++	++
Oc .....	++	+++	+++	+++
Og .....	+++	+++	+++	+++
Oh .....	0	+	+	++
O <sup>13-3</sup> .....	+++	+++	+++	+++
O <sup>13-6</sup> .....	+++	+++	+++	+++
O <sup>13-7</sup> .....	+	++	+++	+++
O <sup>13-11</sup> .....	+++	+++	+++	+++
O <sup>13-14</sup> .....	++	+	+++	+++
O <sup>13-15</sup> .....	+++	+++	+++	+++
O <sup>13-16</sup> .....	+++	+++	+++	+++
O <sup>13-17</sup> .....	+	+	+	+
O <sup>13-18</sup> .....	0	+	+++	+++
O <sup>16-1</sup> .....	+	+	++	++
O <sup>16-2</sup> .....	+++	+++	+++	+++
O <sup>16-3</sup> .....	+	+++	+++	+++
O <sup>16-4</sup> .....	+	++	++	++
O <sup>16-5</sup> .....	+++	+++	+++	+++
O <sup>16-9</sup> .....	+++	+++	+++	+++
O <sup>16-11</sup> .....	+++	+++	+++	+++
O <sup>16-12</sup> .....	+	++	++	++

En tenant compte de l'action sur le lactose qui, dans l'esprit de notre travail, apparaissait comme la plus importante parmi les indications recueillies, nous avons distingué deux grands groupes parmi les formes levures soumises à nos premiers examens.

- a) Les espèces qui détruisent le lactose presque intégralement,
- b) Les espèces qui attaquent faiblement ce sucre.

Pour une étude détaillée, nous avons retenu comme formes levures types dans le groupe a) les souches O<sup>1</sup>, O<sup>3</sup>, O<sup>12</sup>, Og, Cy<sup>1</sup>, et Cy<sup>7</sup>.

Dans le groupe b) les souches O<sup>13,14</sup>, O<sup>13,17</sup>, O<sup>13,18</sup>, O<sup>16,1</sup>, O<sup>16,4</sup>, Cy<sup>3</sup> et Cy<sup>6</sup>.

b) **Généralisation des observations précédentes.** — La valeur des observations que nous avons rapportées ci-dessus s'est trouvée considérablement renforcée, du fait que nous avons reconnu qu'elles restaient valables pour des Camemberts d'origines diverses et fabriqués en différentes saisons. Nous avons notamment constaté que les contaminations du lait par les levures de vin (période de vinification en Anjou) ou par les levures de cidre (période de la fabrication du cidre en Normandie) n'ont pas eu d'influence sensible, dans nos essais, sur la nature de la première flore fongique des Camemberts fabriqués en Anjou et en Normandie. Cette flore initiale a donc assez de constance dans ses caractères généraux pour qu'on puisse la considérer comme résultant d'une étroite adaptation au milieu où elle vit normalement.

### III. ETUDE DÉTAILLÉE DE QUELQUES TYPES CARACTÉRISTIQUES DES FORMES LEVURES OBSERVÉES

Cette étude a porté sur les 13 souches précédemment indiquées dont 9 provenaient de la fromagerie O. et 4 de la fromagerie Cy.

a) **Formation de voiles ou d'anneaux. Dimensions cellulaires.** — Dans le tableau III sont rassemblés les résultats les plus saillants de l'examen des cultures et ceux de la mensuration des cellules (culture sur lactosérum.)

La plupart des souches que nous avons retenues présentent donc des globules de forme ronde ou ovale légèrement allongée. Quelques-unes sont cependant assez nettement allongées.

TABLEAU III  
 CARACTÉRISTIQUES DES FORMES LEVURES TYPES  
 FORMATION DE VOILES OU D'ANNEAUX - DIMENSIONS CELLULAIRES

Désignation des souches	Formation de		Dimensions des globules en $\mu$	
	voiles	anneaux	Grand diamètre	Petit diamètre
O <sup>1</sup> .....	—	+	5-6,5	4,5
O <sup>3</sup> .....	—	—	5-7	2,5-4
O <sup>12</sup> .....	—	+	3,5-5	2,5-3,5
Og .....	—	+	3,5-5	2,5-3,5
Cy <sup>1</sup> .....	—	+	5-6,5	2,5-3
Cy <sup>7</sup> .....	+	—	3,5-5	3,5-5
O <sup>13,14</sup> .....	+	—	7	4,5-5
O <sup>13,17</sup> .....	—	+	3,5-5	3,5-5
O <sup>13,18</sup> .....	—	+	2,5	2,5
O <sup>16,1</sup> .....	—	+	4,5	4,5
O <sup>16,4</sup> .....	—	—	3,5	3,5
Cy <sup>3</sup> .....	—	+	2-2,5	2-2,5
Cy <sup>6</sup> .....	—	+	3,5	2,5-3,5

b) **Colonies géantes.** — Les colonies géantes obtenues après quatre jours sur lactosérum gélosé ont donné les aspects brièvement indiqués dans le tableau IV.

TABLEAU IV  
 ASPECT DES COLONIES GÉANTES DES FORMES LEVURES TYPES

Désignation des espèces	Aspect des colonies géantes
O <sup>1</sup> .....	Colonie à bords réguliers, blanchâtre, étalée.
O <sup>3</sup> .....	Colonie à bords réguliers, centre déprimé, blanchâtre, étalée.
O <sup>12</sup> .....	Colonie à bords réguliers, blanche, étalée.
Og .....	Colonie blanche, dentelée, volumineuse.
Cy <sup>1</sup> .....	Colonie blanchâtre volumineuse, un peu étalée.
Cy <sup>7</sup> .....	Colonie blanche, épaisse, lisse, bords réguliers.
O <sup>13,14</sup> .....	Colonie grisâtre, frisée, étalée.
O <sup>13,17</sup> .....	Colonie blanchâtre.
O <sup>13,18</sup> .....	Colonie blanchâtre, très adhérente au milieu.
O <sup>16,1</sup> .....	Colonie pâle, sèche.
O <sup>16,4</sup> .....	Colonie blanche, compacte.
Cy <sup>3</sup> .....	Colonie blanche, épaisse, bords réguliers.
Cy <sup>6</sup> .....	Colonie blanche, mamelonnée, bords nets et réguliers.

c) **Sporulation.** — Les essais de sporulation souvent répétés au cours de 3 années d'étude, soit sur blocs de plâtre, soit sur milieu de Gorodkowa, ont toujours été négatifs. Un doute n'a subsisté que pour la souche O<sup>13-14</sup> qu'on a vu sporuler une fois.

d) **Températures optima.** — Les souches étudiées ont été cultivées sur lactosérum à diverses températures. D'après les indications fournies par le dosage du lactose résiduel, nous avons pu dresser le tableau suivant, des températures optima.

TABLEAU V  
TEMPÉRATURES OPTIMA DES FORMES LEVURES TYPES

Désignation des souches	Températures
O <sup>1</sup> .....	20-27° C.
O <sup>3</sup> .....	20-27° C.
O <sup>12</sup> .....	20-37° C.
Og.....	20-37° C.
Cy <sup>1</sup> .....	20-37° C.
Cy <sup>7</sup> .....	20-37° C.
O <sup>13-14</sup> .....	27° C.
O <sup>13-17</sup> .....	27° C.
O <sup>18-18</sup> .....	27° C.
O <sup>16-1</sup> .....	20° C.
O <sup>16-4</sup> .....	27° C.
Cy <sup>3</sup> .....	27° C.
Cy <sup>6</sup> .....	27° C.

e) **Températures mortelles.** — Des cultures des différentes souches sur lactosérum, en ampoules, ont été portées les unes à 60° pendant 5 minutes, les autres à 55° pendant 5 minutes ou à 52° pendant 5 minutes.

Toutes les souches résistaient à 52° pendant 5 minutes, toutes étaient détruites par un séjour de 5 minutes à 55° C.

f) **Action sur les sucres.** — Nous avons étudié les produits de l'attaque du lactose par les souches du premier groupe, ceux de l'attaque du glucose par les souches du second groupe. Tous les types furent également cultivés sur maltose afin d'obtenir un caractère supplémentaire qui ne manque pas d'intérêt au point de vue de la systématique.

Le tableau VI rassemble tous les renseignements fournis par ces expériences.

TABLEAU VI

## ACTIONS DES FORMES LEVURES TYPES SUR QUELQUES SUCRES

Désignation des souches	Age des cultures en jours	Sucre utilisé % <sup>o</sup>	Alcool % <sup>o</sup>	Acidité totale SO <sup>3</sup> H % <sup>o</sup>	Acidité volatile	Acidité fixe	Ethers volatils en acétate d'éthyle	Rapport Sucre consommé levure formée
Cultures du lactosérum : 52,75 % <sup>o</sup> de lactose								
Témoin .		0	0	0,82	0,16	0,66		
O <sup>1</sup> . . . . .	45	52,75	22,8	1,338	0,697	0,641	0,105	28,4
O <sup>3</sup> . . . . .	49	50,77	21,6	1,338	0,719	0,619	0,105	31,7
O <sup>12</sup> . . . . .	52	52,75	23,04	1,839	0,712	0,672	0,139	30,2
Og . . . . .	54	52,75	20,64	0,893	0,436	0,495	0,105	19,2
Cy <sup>1</sup> . . . . .	58	52,75	22,5	0,640	0,283	0,357	0,188	20,2
Cy <sup>7</sup> . . . . .	59	52,75	17,52	0,582	0,188	0,394	0,105	18,5
Cultures sur touraillon glucosé à 48 % <sup>o</sup>								
Témoin .		0		0,194				
O <sup>12,14</sup> . . . . .	70	48,0	6,84	0,698	0,326	0,372	0,073	10,5
O <sup>13,17</sup> . . . . .	75	12,6	0,6	0,465	0,080	0,385	0,052	3,6
O <sup>13,18</sup> . . . . .	77	48,0	8,28	0,349	0,152	0,197	0,052	9,5
O <sup>16,1</sup> . . . . .	81	8,85	0,54	0,355	0,066	0,289	0,053	2,8
O <sup>16,4</sup> . . . . .	83	16,05	4,74	0,235	0,147	0,088	0,105	4,8
Cy <sup>3</sup> . . . . .	66	17,1	6,96	0,291	0,072	0,219	0,052	5,9
Cy <sup>6</sup> . . . . .	68	32,1	8,76	0,291	0,225	0,066	0,115	8,4
Cultures sur touraillon maltosé à 44 % <sup>o</sup>								
Témoin .		0	0	0,800				
O <sup>1</sup> . . . . .	87	3,32	0	0,661	0,054	0,607		1,8
O <sup>3</sup> . . . . .	87	4,07	0	0,735	0,054	0,679		2,1
O <sup>12</sup> . . . . .	88	4,07	0	0,588	0,082	0,506		2,2
Og . . . . .	89	6,87	0	0,661	0,091	0,570		2,5
Cy <sup>1</sup> . . . . .	90	5,37	0	0,514	0,063	0,451		2,6
Cy <sup>7</sup> . . . . .	91	6,12	0	0,220	0,091	0,129		2,4
O <sup>13,14</sup> . . . . .	92	1,82	0	0,220	0,082	0,138		
O <sup>13,17</sup> . . . . .	93	8,75	0,15	0,367	0,082	0,285		2,9
O <sup>13,18</sup> . . . . .	93	44	0,75	0,294	0,082	0,212		6,9
O <sup>16,1</sup> . . . . .	97	12,50	0,9	0,441	0,054	0,387		
O <sup>16,4</sup> . . . . .	98	6,13	0,82	0,367	0,054	0,313		
Cy <sup>3</sup> . . . . .	91	6,12	0,67	0,367	0,091	0,276		2,3
Cy <sup>6</sup> . . . . .	92	3,32	0	0,294	0,073	0,221		

L'examen du tableau VI permet de constater :

1° Que les souches étudiées, à l'exception d'une seule, ne se montrent pas actives dans l'attaque du maltose.

2° Que les souches qui attaquent faiblement le maltose se distinguent par leur inégale activité vis-à-vis du glucose.

3° Que les souches du premier groupe peuvent détruire à peu près totalement le lactose d'un lactosérum normal avec formation de notables quantités d'alcool et d'acide.

Afin de préciser ce dernier point et de nous rendre compte si nous étions en présence de véritables ferments alcooliques du lactose, nous avons effectué des cultures sur le lactosérum enrichi en lactose (voir tableau VII) et nous avons pu constater : 1° que O<sup>12</sup>, Cy<sup>1</sup> et Cy<sup>7</sup> sont nettement plus actifs comme ferments du lactose que O<sup>1</sup>, O<sup>3</sup> ; 2° que les plus actifs de ces ferments peuvent donner jusqu'à 4° d'alcool aux dépens du lactose.

TABLEAU VII

## ACTION DE QUELQUES LEVURES TYPES SUR LE LACTOSE

Cultures sur lactosérum à 103,5‰ de lactose						
Souches étudiées	Age des cultures en jours	Lactose consommé ‰	Alcool fourni ‰	Acidité en SO <sup>4</sup> H <sup>2</sup> ‰		
				Totale	Volatile	Fixe
O <sup>1</sup> .....	14	67,88	31,6	1,65	0,34	1,31
O <sup>3</sup> .....	14	59,55	27,6	1,53	0,38	1,15
O <sup>12</sup> .....	14	81,63	38	1,57	0,42	1,15
Og .....	14	67,25	31,6	1,65	0,42	1,23
Cy <sup>1</sup> .....	14	97,92	44	1,73	0,54	1,19
Cy <sup>7</sup> .....	14	85,38	40,5	1,57	0,34	1,23

g) **Action sur l'acide lactique en présence de lactose.** —

Les différentes formes types ont été cultivées sur lactosérum amené par addition d'acide lactique, soit à 125° Dornic, soit à 220° Dornic. On a pu ainsi déterminer leur action tant sur le lactose que sur l'acide lactique dans les conditions de la double expérience ainsi réalisée.

Les résultats obtenus sont confrontés dans le tableau VIII, où les chiffres expriment le lactose ou l'acide lactique consommé pour 100 de lactose ou d'acide à l'origine.

TABLEAU VIII  
ACTION SIMULTANÉE DES FORMES LEVURES TYPES SUR  
L'ACIDE LACTIQUE ET LE LACTOSE

Souches étudiées	Cultures de 3 jours sur lactosérum à 125° Dornic		Cultures de 8 jours sur lactosérum à 220° Dornic	
	Lactose disparu	Acide disparu	Lactose disparu	Acide disparu
O <sup>1</sup> .....	83,8	7,1	6	1,9
O <sup>3</sup> .....	81,8	0	11,5	1,9
O <sup>12</sup> .....	100	7,1	29	0
Og .....	58	7,1	1,8	1,9
Cy <sup>1</sup> .....	100	0	22,5	3,8
Cy <sup>7</sup> .....	100	7,1	25,3	0
O <sup>13,14</sup> .....	2,8	85,7	1,8	21,5
O <sup>13,17</sup> .....	4,1	42,8	0	1,9
O <sup>13,18</sup> .....	2,8	7,1	3,2	0
O <sup>16,1</sup> .....	4,1	21,4	0	1,9
O <sup>16,4</sup> .....	1,4	14,2	1,8	0
Cy <sup>3</sup> .....	2,8	10,7	3,2	1,9
Cy <sup>6</sup> .....	1,4	14,2	0	1,9

L'examen des chiffres du tableau VIII fait ressortir très nettement les deux groupes de formes levures que nous avons distingués dès l'origine. Il montre en outre que les levures qui font fermenter le lactose ont une action peu marquée sur l'acide lactique, tandis que les levures qui ne font pas fermenter le lactose *détruisent en général vigoureusement cet acide* au voisinage de 100° Dornic.

*h) Résistance au sel.* — Dans des boîtes de Pétri contenant du lactosérum gélosé et salé à 5 ou 10%, nous avons ensemencé les diverses souches que nous avons étudiées et déterminé le temps au bout duquel les colonies devenaient apparentes.

Les résultats de ces déterminations sont groupés dans le tableau IX.

Ces chiffres expliquent que le salage puisse assurer la prédominance des formes levures à la surface des fromages avant l'apparition du *Penicillium*.

*i) Action sur la caséine dans le lait.* — Cultivés sur du lait stérile en tubes, à 30° C., les 13 types microbiens étudiés ont pour la plupart exercé une action visible sur la caséine du lait. Mais cette action ne devient appréciable qu'au bout d'un temps qui dépasse de beaucoup la durée de la première phase de la maturation.

Dans le tableau X nous avons indiqué par le signe + la peptonisation visible de la caséine du lait, par 0, l'absence de modification apparente.

TABLEAU IX  
RÉSISTANCE DES FORMES LEVURES TYPES AU CHLORURE DE SODIUM

Levures étudiées	5 % NaCl	10 % NaCl
	Développement visible après	
	(heures)	(heures)
O <sup>1</sup> .....	48	60
O <sup>3</sup> .....	48	60
O <sup>12</sup> .....	48	60
Og .....	48	60
Cy <sup>1</sup> .....	48	Pas de développement après 60 heures
Cy <sup>7</sup> .....	48	60
O <sup>13_14</sup> .....	60	Pas de développement après 60 heures
O <sup>13_17</sup> .....	48	60
O <sup>13_18</sup> .....	60	60
O <sup>16_1</sup> .....	60	60
O <sup>16_4</sup> .....	48	60
Cy <sup>3</sup> .....	48	60
Cy <sup>5</sup> .....	48	60

TABLEAU X  
ACTION DES FORMES LEVURES TYPES SUR LA CASÉINE DANS LE LAIT

Souches étudiées	Action sur le lait	
	Après 50 jours	Après 120 jours
O <sup>1</sup> .....	+	+
O <sup>3</sup> .....	+	+
O <sup>12</sup> .....	+	+
Og .....	+	+
Cy <sup>1</sup> .....	+	+
Cy <sup>7</sup> .....	+	+
O <sup>13_14</sup> .....	0	0
O <sup>13_17</sup> .....	+	+
O <sup>13_18</sup> .....	0	0
O <sup>16_1</sup> .....	+	+
O <sup>16_4</sup> .....	0	0
Cy <sup>3</sup> .....	0	+
Cy <sup>6</sup> .....	+	+

Le tableau X montre que toutes les levures du premier groupe sont peptonisantes, pendant que 4 seulement sur 7 du second groupe avaient nettement attaqué la caséine du lait dans des cultures de 120 jours.

**j) Coordination et interprétation des observations précédentes :**

1° Les formes levures étudiées sont toutes asporogènes. Nous les rangeons donc avec GUILLIERMOND dans le groupe des non saccharomycétacées.

2° L'ensemble de leurs caractères et notamment la forme des cellules, leur manière de se comporter sur milieux liquides (pas de voiles ou voiles muqueux très légers), leur aptitude à faire fermenter certains sucres, permettent de les rapprocher du genre *Torula*. Sur les treize types étudiés, seul O<sup>13,14</sup> pourrait à la rigueur être considéré comme appartenant au genre *mycoderma* en raison de sa forme allongée et de son aptitude à former dès le début de son développement des voiles très nets sur les liquides de culture. Mais nous avons dit qu'il subsiste des doutes au sujet de l'aptitude de cette souche à la sporulation.

3° Parmi les formes *Torula* étudiées, une distinction bien nette s'établit entre celles qui font fermenter le lactose et celles qui ne font pas fermenter ce sucre. Cette distinction correspond en outre à une manière différente de se comporter vis-à-vis de l'acide lactique. D'une manière générale, aux concentrations de 10 à 12 grammes d'acide par litre, les formes *Torula* du deuxième groupe sont beaucoup plus actives que celles du premier groupe en tant qu'agents de destruction de l'acide lactique, et cette aptitude les rend particulièrement propres à vivre en symbiose avec les ferments lactiques.

4° Dans chacun des deux groupes précédents, on ne relève entre les différentes souches que des différences d'ordre assez secondaire comme celles qui ont trait à la résistance aux fortes doses d'acidité ou de sel ou bien encore à des détails relevés dans l'aspect des colonies géantes. L'identification de chacune de ces souches avec des espèces déjà décrites est par ailleurs assez difficile.

5° On peut se demander si dans chacun des deux groupes ci-dessus indiqués on ne se trouve pas en présence de différentes races, adaptées à un même mode de vie, mais issues d'un certain nombre de types primitifs différents. Avant de se prononcer sur la question des distinctions d'espèces, nous pensons donc qu'il vaut mieux attendre des études nouvelles. De même, une seule

des souches étudiées par nous s'étant montrée capable de faire fermenter le maltose, nous préférons, jusqu'à plus ample informé, ne pas constituer un troisième groupe parmi les formes *Torula* vivant normalement sur les Camemberts.

#### IV. CONCLUSION GÉNÉRALE DE NOTRE ÉTUDE

Nous avons démontré que les Camemberts d'excellente qualité peuvent être régulièrement obtenus dans un type de fabrication tel que la maturation débute régulièrement par une phase caractéristique où la flore fongique superficielle est constituée presque uniquement de formes *Torula*.

Nous pensons d'autre part que cette phase initiale est indispensable à la bonne marche de l'affinage. Elle correspond en effet à une conjoncture sélective qui tend à limiter les végétations précoces et exubérantes d'oidium avec tous les inconvénients, bien connus des praticiens, qu'elles entraînent.

Rappelons encore, pour terminer, que nous ne nous sommes préoccupés dans ce travail que de l'évolution des formes levures à la surface des Camemberts. Ce phénomène n'a rien de commun avec la formation des cavités dues aux dégagements gazeux que produisent les levures de lactose lorsqu'elles envahissent toutes les masses du caillé dans les fromageries mal tenues.

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] E. DUCLAUX (1889). *Le Lait*, Lib. Baillière, édit., p. 292.
- [2] B. W. HAMMER (1926). Les levures et les produits de laiterie. *Journal of Dairy Science*, vol. IX, n° 6, 1926, p. 507-511. — An. in *Le Lait*, 1929, p. 655.
- [3] A. HUESMANN (1926). Sur la morphologie et la physiologie de quelques levures sauvages importantes en fromagerie. *Milch. Forschungen*, t. III, n° 4, p. 313-349. — An. in *Le Lait*, 1929, p. 773.
- [4] P. MAZÉ (1910). Technique fromagère. *Ann. Institut Pasteur*, p. 395.
- [5] H. REDFIELD (1922). La détermination des levures et des moisissures dans la crème et dans le beurre. *Creamery and Milk Plant Monthly*, vol. XI, n° 4. — An. in *Le Lait*, 1923, p. 315.
- [6] N. SLOBODSKA-ZAYKOWSKA (1926). L'action conservatrice des levures lactiques sur les bactéries lactiques. *Biochemische Zeitsch.*, t. CLXIX, p. 77-92. — An. in *Le Lait*, 1929, p. 391 et 1085.
- [7] E. TRUPER (1928). Sur les levures faisant fermenter le lactose dans le lait. *Milchwirtsch. Forschungen*, t. VI, p. 351-402. — An. in *Le Lait*, 1931, p. 962.