



Quels sont les bénéfices et risques des bactéries à Gram-négatif sur les caractéristiques sensorielles des fromages ?

Françoise Irlinger, Céline Delbès, Sandra Hélinck, Annick Lebecque, Cécile Bord, Christine Montel



Fabrication et Biodiversité bactérienne : Deux exemples

Pâte pressée non cuite croûte fleurie

- Ratio Surface/Volume **moyen à fort**
- Changement de pH **faible**
- Phénomène **anaérobie**
- Rôle important **des bactéries lactiques en cœur**



Pâtes molles croûtes lavées

- Ratio Surface/Volume **fort**
- Changement de pH **élevé**
- Phénomène **aérobie**
- Diversité et rôle importants de la **flore de surface**





Diversité microbienne d'origine multiple :



Pâte Molle Croûte Lavée

- Flore technologique

- Bactérie lactique
- **Levures**
- **Bactérie d'affinage**

- Flore de l'environnement

(ferme, animaux, lait, air, atelier,...)

Pâte Pressée Non Cuite



- Flore technologique

- **Bactérie lactique**
- Levures et moisissures
- Bactérie d'affinage

- Flore de l'environnement

(ferme, animaux, lait, air, atelier,...)

Présence de bactéries à Gram-négatif : Non inoculées mais souvent détectées dans les fromages et considérées comme des indicateurs de problèmes d'hygiène

Niveau élevé dans les fromages
de 10^8 à 10^9 ufc /g : *Halomonas* spp.,
Psychrobacter spp, *Hafnia* spp..
(Mounier et al., 2009, 2005)

Niveau moyen dans les fromages
de 10^5 à 10^7 ufc /g: *Chryseobacterium*
Alcaligenes,...
(Delbès et al.; 2007)



Etudier les capacités d'implantation des bactéries à **Gram négatif** sur deux modèles de fromages :

- Pâte Pressée Non Cuite (PPNC)
- Pâte Molle Croûte Lavée (PMCL)

Evaluer leur impact sur les **propriétés sensorielles** des fromages



☒ Définition de consortia microbiens d'intérêt technologique

- fromage modèle «pâte» (type pâte pressée non cuite)
- fromage modèle «surface» (type pâte molle à croûte lavée)

☒ Choix de 9 bactéries à Gram-négatif, représentatives du groupe «faible risque»:

Halomonas sp.,

Pantoea agglomerans,

Acinetobacter sp.,

Psychrobacter celer,

Alcaligenes faecalis,

Pseudomonas putida,

Proteus vulgaris,

Pseudomonas stutzeri,

Hafnia alvei

☒ Evaluation et Impact du facteur « taux d'inoculation » ?

- 10^2 UFC / g de fromage (contamination) **UFC : nombre de bactéries**
- 10^6 UFC / g de fromage (levains)

☒ Caractérisation sensorielle des fromages avec ou sans Gram-:

- Identification et quantification des composés aromatiques
- Evaluation par analyse sensorielle



1-Définition des *consortia* de référence

PPNC : Pâte

Streptococcus thermophilus
Enterococcus faecalis
Leuconostoc mesenteroides
Lactobacillus plantarum

Lactococcus lactis
Arthrobacter arilaitensis
Corynebacterium casei
Staphylococcus equorum
Debaryomyces hansenii
Yarrowia lipolytica

PMCL : Surface

Corynebacterium flavescens
Corynebacterium variabile
Staphylococcus xylosus
Geotrichum candidum
Kluyveromyces lactis

10 espèces



12 espèces

Sélection de *consortia* spécialisés

■ *Bactéries lactiques*

■ *Bactéries d'affinage*

■ *Levures d'affinage*

- ☒ Les espèces et équilibres des populations sont différents dans la pâte et en surface
- ☒ 4 espèces de bactéries et 2 de levures sont communes aux deux *consortia* de référence



Co-inoculations du consortium technologique et de bactéries Gram- en fromage

Consortium technologique référence:

PPNC : 10^3 UFC/ml (bactérie) - 10^2 UFC/ml (levure)

PMCL: 10^6 UFC/ml (bactérie) - 10^4 UFC/ml (levure)

Bactéries Gram négatif

10^2 - 10^6 UFC/ml

Ensemencement en lait pasteurisé (fromage modèle PPNC)
ou en caillé au lait pasteurisé (fromage modèle PM)

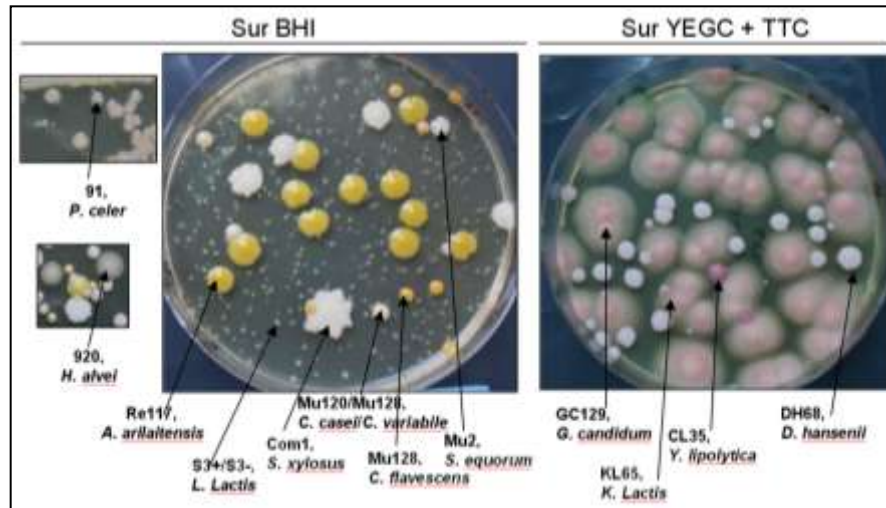
Fromages modèles
Affinage 28 jours (PPNC)
35 jours (PMCL)

Dynamique des populations
Production des composés d'arômes volatils
Analyse Sensorielle



2- Suivi des **populations microbiennes** de 5 à 35 jours d'affinage

Dénombrement classique sur milieux spécifiques :



(Bactéries d'affinage)

(Levures)

3- Analyse **des composés d'arômes** par Chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS)

4- Analyse sensorielle **avec jury entraîné**, basée sur des tests triangulaires, tests de classement, comparés au fromage témoin sans ajout de bactérie Gram-négatif

Résultats



Implantation des 9 bactéries à Gram-négatif

En « Cœur » : modèle fromage PPNC

- **Bon développement** de *Hafnia alvei* et *Proteus vulgaris* (10^6 UFC à 28J)
- **Pas de croissance** des 7 autres espèces gram négatif
- **Impact significatif** mais **faible** des 2 espèces Gram- sur les niveaux de populations (réduction des entérocoques, des bactéries d'affinage et des levures, mais augmentation des lactobacilles)

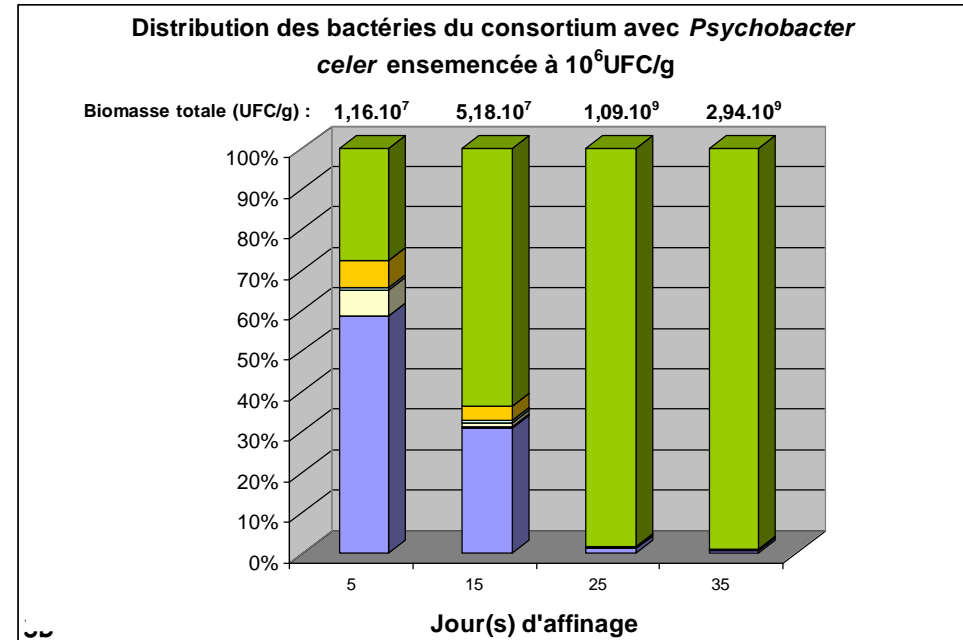
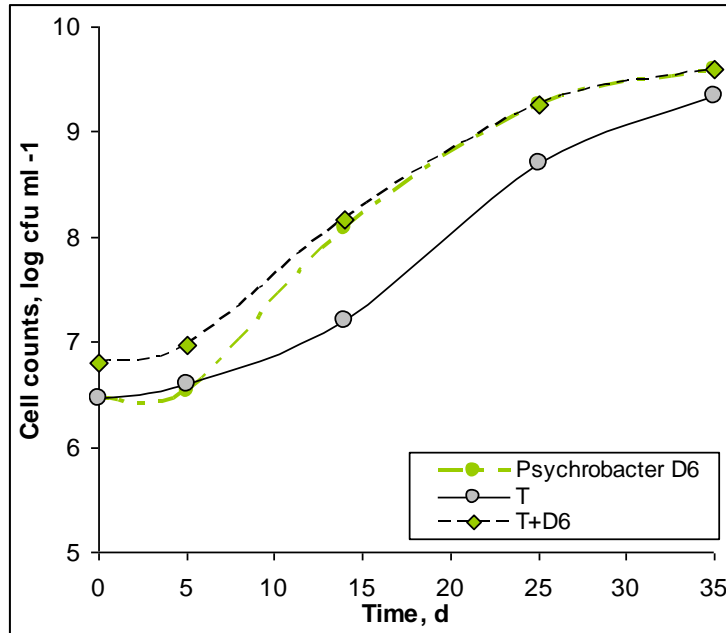
En « Surface » modèle fromage PMCL

- **Rôle barrière** du consortium microbien vis-à-vis des Gram- inoculés à 10^2 UFC/g
- **Fort pouvoir colonisateur** et **fort impact** de *Psychrobacter celer* sur les niveaux de populations
- **Bon développement** de *H. alvei* et *Algaligenes faecalis* au cours des 35 jours d'affinage
- Sous dominance des espèces *Pantoea agglomerans*, *Halomonas sp.*
- **Pas de croissance** des 4 autres espèces Gram-négatif

Résultats



Exemple 1: Implantation de *Psychrobacter celer* dans le modèle surface



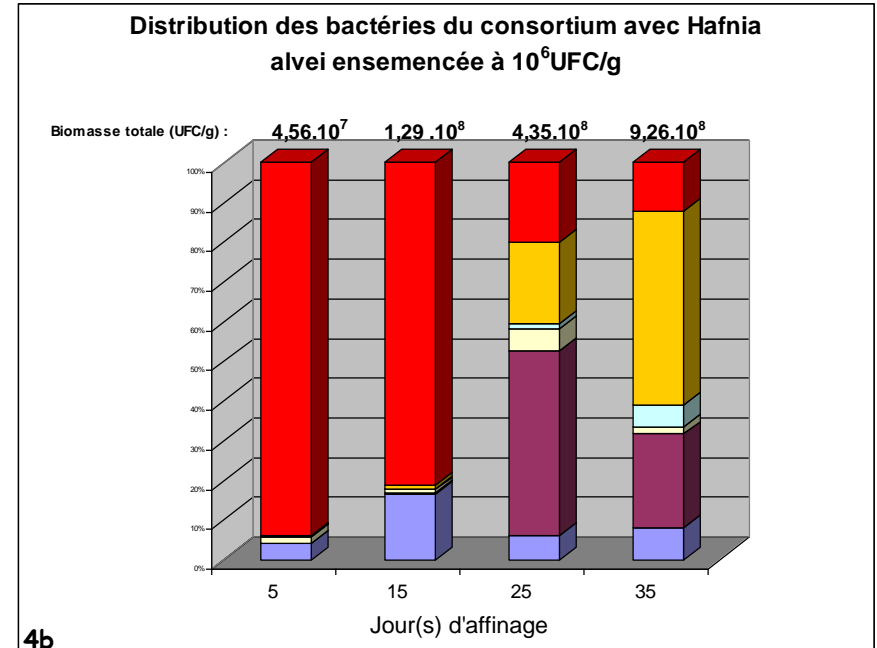
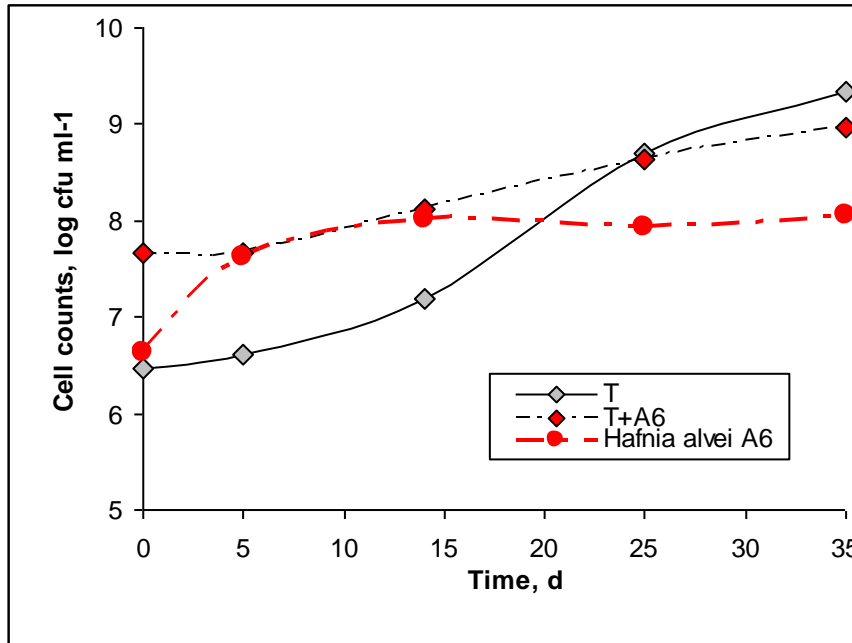
Biomasse totale d'un fromage modèle surface au cours du temps :
(T) consortium de référence sans ajout de bactérie à gram négatif
(T+ D6) consortium de référence avec ajout de *Psychrobacter celer* (10⁶ cfu/g)

Distribution des espèces bactériennes présentes dans le fromage modèle avec ajout de *P. celer* (10⁶ cfu/g); (■) *C. flavescens*; (□) *S. xylosus*; (■) *S. equorum*; (■) *C. casei*; (■) *Psychrobacter celer*

Résultats



Exemple 2: Implantation de *Hafnia alvei* dans le modèle surface



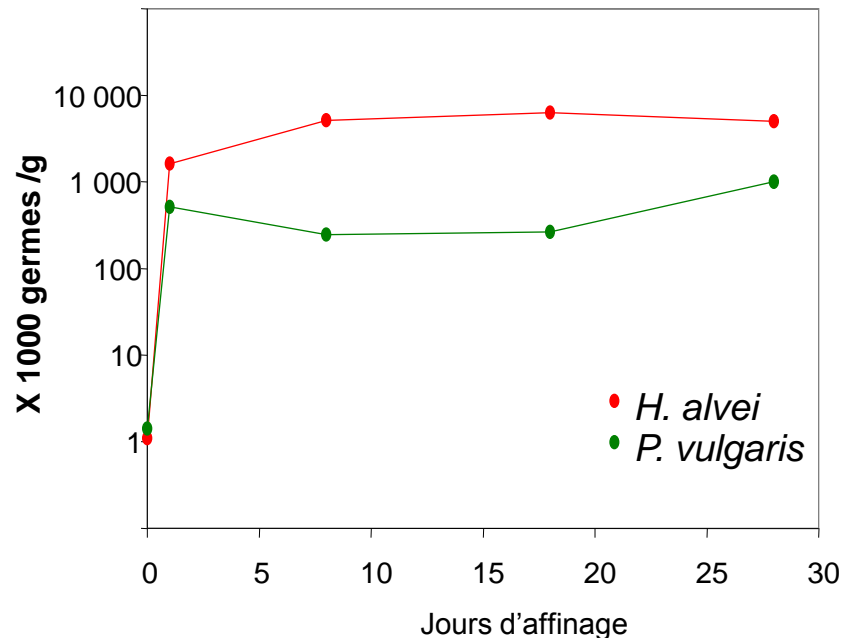
Biomasse totale d'un fromage modèle surface au cours du temps :
(T) consortium de référence sans ajout de bactérie à Gram-négatif
(T+ A6) consortium de référence avec ajout de *Hafnia alvei* (10^6 cfu/g)

Distribution des espèces bactériennes présentes dans le fromage modèle avec ajout de *H. alvei* (10^6 cfu/g); (■) *C. flavescens*; (■) *S. xylosum*; (■) *S. equorum*; (■) *C. casei*; (■) *Hafnia alvei*, (■) *A. arilaitensis*

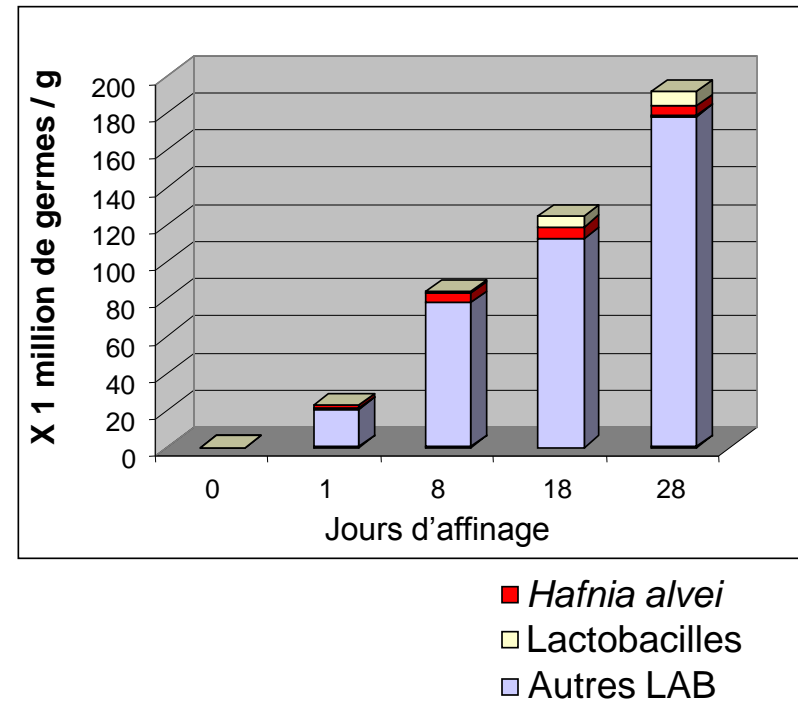
Résultats



Exemple 3: Implantation de *Hafnia alvei* et de *Proteus vulgaris* dans le modèle pâte



Croissance de *H. alvei* et *P. vulgaris* dès 1 jour dans la pâte du fromage



Distribution des espèces bactériennes présentes dans le fromage modèle avec ajout de *H. alvei* (10^3 cfu/g)



Bénéfices / risques sur les **qualités sensorielles** du **fromage modèle PPNC (Cœur)**

Après Inoculation d'*Hafnia alvei*, *P.vulgaris*, *Halomonas* :

- **Faible Impact** des espèces Gram- sur les niveaux de populations
- **Pas d'effet** sur la production de **molécules aromatiques**
- **Pas d'effet** sur la couleur et l'odeur
- **Texture** plus ferme avec *H. alvei*
- **Aucune souche** n'est responsable de défauts

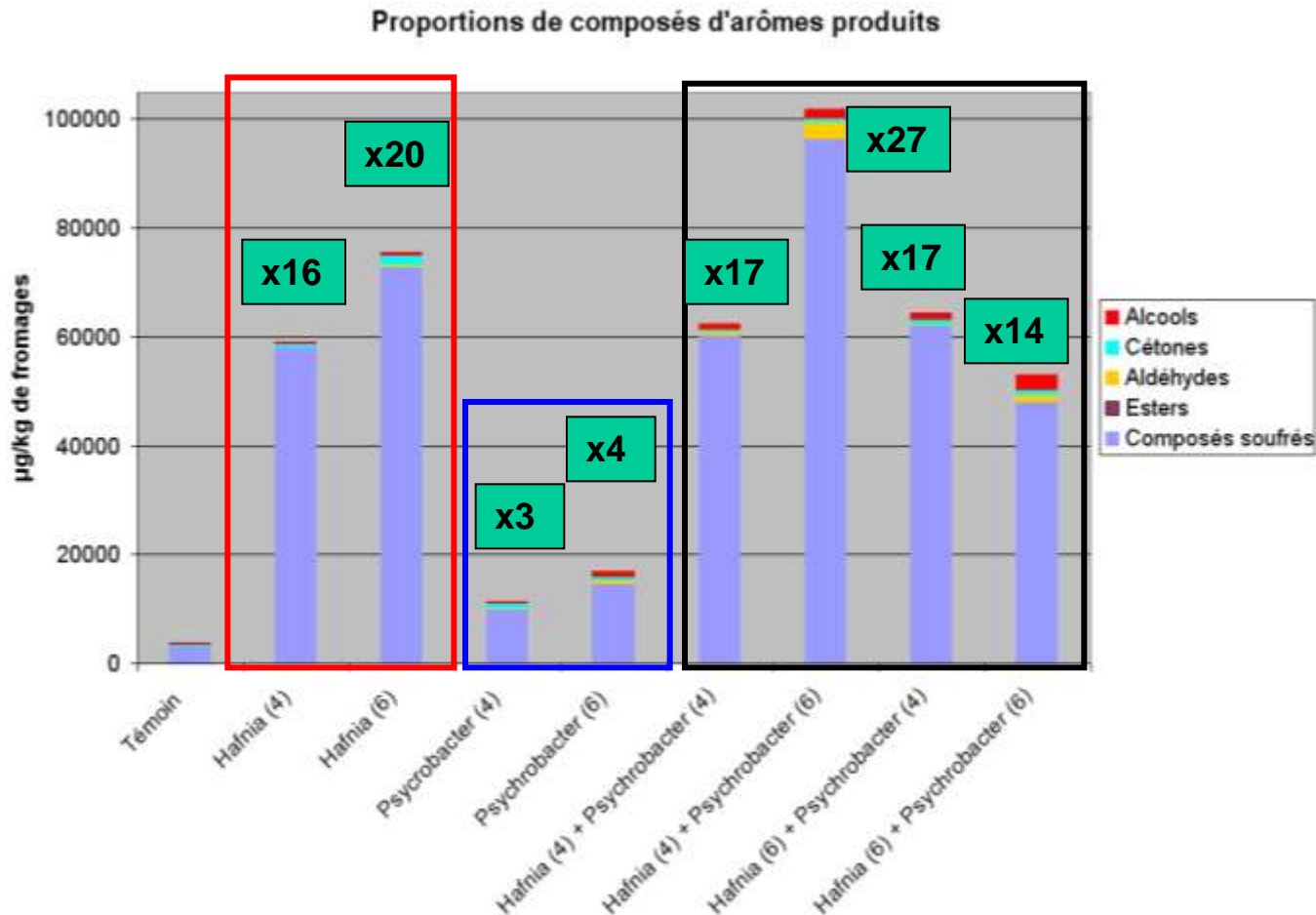


Résultats PMCL



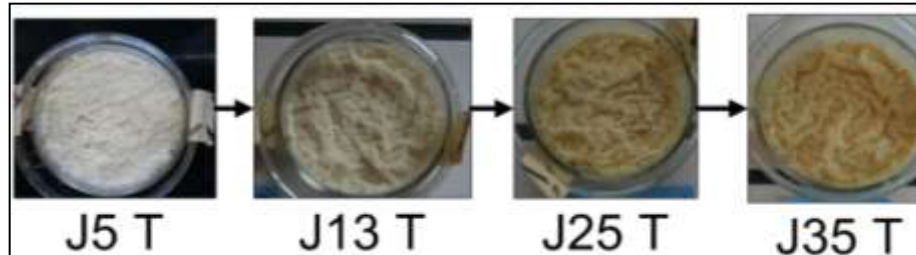
Bénéfices / risques sur les qualités sensorielles du fromage modèle PMCL (Surface)

Après Inoculation d'*Hafnia alvei* et/ou de *Psychrobacter celer*

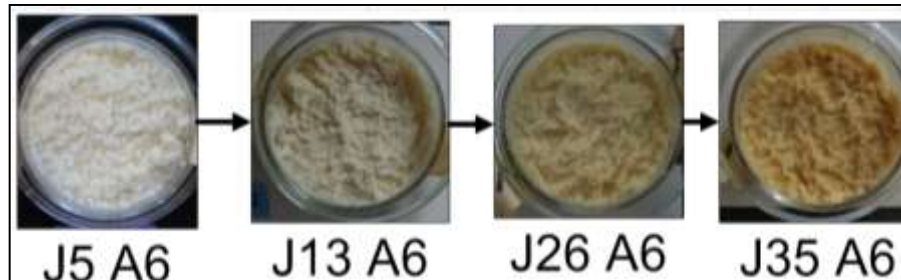




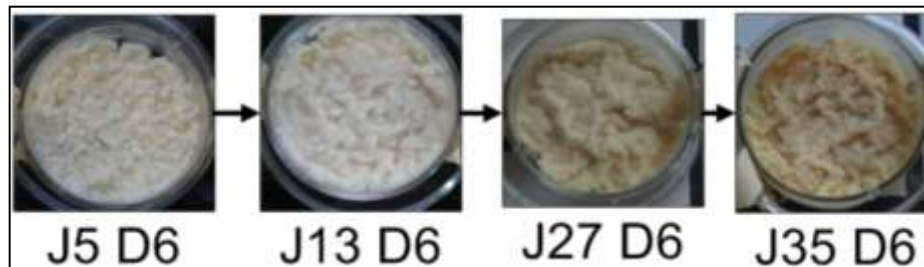
Pigmentation des fromages modèle « surface » avec ou sans bactéries à Gram négatif



Consortium témoin sans ajout de bactérie à Gram négatif



Consortium témoin avec ajout de *Hafnia alvei*



Consortium témoin avec ajout de *Psychrobacter celer*



Bénéfices / risques sur les **qualités sensorielles** du **fromage modèle PMCL (Surface)**

→ Inoculation de ***P. celer*** à **10⁶ufc/g**

- **Fort colonisateur** provoquant une importante **réduction** de la biodiversité microbienne du consortium
- **Production accrue d'aldéhydes** (catabolisme des acides aminés), cétones (oxydation des acides gras), thioesters

→ Inoculation ***H. alvei*** à **10⁶ufc/g**

- **Bonne implantation** au début mais **sous dominance** en milieu et fin d'affinage : Pas d'effet sur les bactéries d'affinage
- **Production accrue de composés soufrés**

→ Co-inoculation de ***P. celer*** et ***H. alvei***

- **Maintien de la biodiversité**
- **Production accrue** d'alcools, aldéhydes, **composés soufrés** (selon la proportion initiale des deux espèces)

Odeur globale intense + Modification de la couleur et aspect des fromages

Conclusions



Impact sensoriel et écologique de bactéries à Gram-négatif inoculées dans deux types de fromages : PPNC et PMCL

Dans PPNC :

Aucun défaut de couleur, d'odeur et d'aspect n'est observé

Sur PMCL:

Impact écologique et sensoriel d' *Hafnia alvei* et de *Psychrobacter celer*

Aucune bactérie à Gram-négativeensemencée dans cette étude n'a été responsable de défauts