

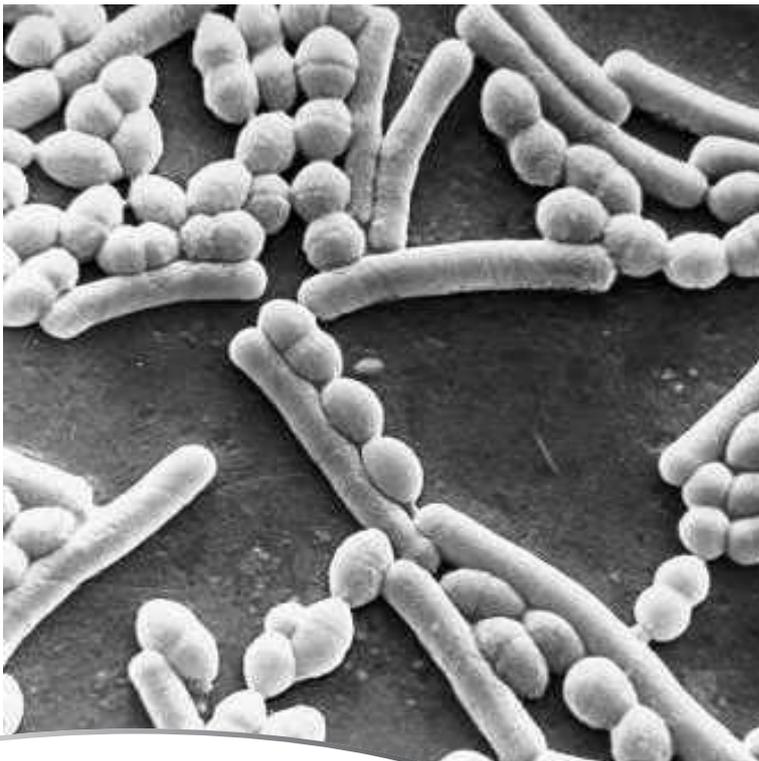


Unité de recherche „lait, fromage“

groupe de discussions

formation continue
échange des expériences
transfert des connaissances

Microbiologie des cultures



*Objectif: approfondir
les connaissances en matière de
bactéries lactiques*

Groupes:
Date:

Généralités
Novembre 2002

Introduction

Le contexte actuel, généré par la mise en application du cahier des charges du Gruyère AOC, oblige les fromagers à utiliser des cultures au petit-lait mûri (PLM) et, en complément seulement, des cultures mixtes brutes (CMB)

Les fabricants de Gruyère se posent des questions quant aux différences qui existent entre les deux types de cultures. Ce document a pour but d'y répondre dans une large mesure. Un essai a été planifié pour récolter, tester et analyser des cultures au PLM. Les résultats sont présentés dans ce document.

Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont classées dans la famille des Lactobacteriaceae et répondent aux caractéristiques suivantes :

| Physiologiques | Biochimiques |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none">- formes en bâtonnets ou de coques- Gram-positif- immobiles- ne forment pas de spores | <ul style="list-style-type: none">- anaérobies- tolérants à l'acidité- exigent des hydrates de carbone, des vitamines et des acides aminés |

Voies du métabolisme

Les bactéries lactiques sont classées, suivant leur métabolisme, en deux catégories. Les homofermentaires, qui transforment le glucose en acide lactique.

Les hétérofermentaires qui produisent, en plus de l'acide lactique, d'autres produits de la fermentation et du gaz carbonique.

Les bactéries lactiques mésophiles

Les bactéries lactiques mésophiles les plus importantes pour la fromagerie sont classées en deux groupes.

Les dénominations des bactéries lactiques ont été modifiées

| Streptocoques homofermentaires | | Streptocoques hétérofermentaires | |
|---|--|--|--|
| Désignation actuelle: <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> <i>L. lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> <i>L. lactis</i> ssp. <i>diacetylactis</i> | antérieure: <i>Streptococcus lactis</i> <i>S. cremoris</i> <i>S. diacetylactis</i> | Désignation actuelle: <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>cremoris</i> <i>Leuc. mesenteroides</i> ssp. <i>dextranicum</i> <i>Leuc. lactis</i> | antérieure: <i>Leuc. cremoris</i> <i>Leuc. dextranicum</i> <i>Leuc. citrovorum</i> |

Propriétés des principales bactéries lactiques mésophiles :

| Propriétés \ Espèces | <i>Lactococcus lactis</i> ssp. | | | <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. | |
|--|--------------------------------|-----------------|------------------------|---------------------------------------|----------------------|
| | <i>lactis</i> | <i>cremoris</i> | <i>diacetyl-lactis</i> | <i>cremoris</i> | <i>mesenteroides</i> |
| Fermentation lactique | homofermentaire | | | hétérofermentaire | |
| Configuration du lactate | L+ | | | D- | D- |
| Acidité produite | 45 °SH | | | 25 °SH | |
| Vitesse d'acidification | rapide | | | lente | |
| T° de croissance* (T° d'incubation) | 20-30 °C (30 °C) | | | 20-30 °C (25 °C) | |
| Fermentation du citrate | non | | oui | | |
| Pouvoir de protéolyse | faible | | | | |

Les bactéries lactiques mésophiles sont avant tout utilisées pour la production de fromages à pâte molle et mi-dure. En production de pâtes dures, on utilise quelques fois des lactocoques mésophiles pour la maturation du lait de chaudière.

Les bactéries lactiques thermophiles

Les bactéries lactiques thermophiles les plus importantes pour l'industrie laitière sont classées en 3 groupes, suivant le type de fermentation qu'elles produisent.

La table ci-dessous donne un aperçu de ces 3 groupes.

| Streptocoques et lactobacilles homofermentaires | Lactobacilles hétéro-fermentaires facultatifs | Lactobacilles hétéro-fermentaires strictes |
|---|---|--|
| <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i> | <i>L. casei</i> ssp. <i>casei</i> | <i>L. fermentum</i> |
| <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> | <i>L. rhamnosus</i> | <i>L. kefir</i> |
| <i>L. helveticus</i> | <i>L. plantarum</i> | |
| <i>S. salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> | | |

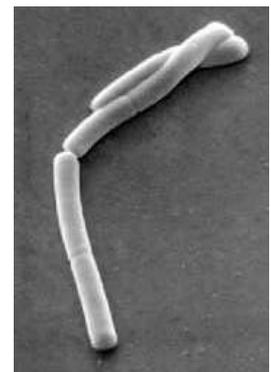


Photo des Lactobacilles dans un microscope électronique

En production fromagère ce sont avant tout les bactéries lactiques homofermentaires et hétérofermentaires qui revêtent une certaine importance

Propriétés des principales bactéries lactiques thermophiles :

| | Str. homo-ferment. | Lactobacilles homofermentaires | | | Lb. hétéro. facultatifs |
|-------------------------------------|---|---|---|------------------------|--|
| Espèces | <i>S. salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> | <i>L. del-brueckii</i> ssp. <i>lactis</i> | <i>L. del-brueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> | <i>L. helveticus</i> | <i>L. casei</i> ssp. <i>casei</i> <i>L. rhamnosus</i> |
| Propriétés | | | | | |
| Configuration du lactate | L+ | D- | | L+ et D- | L+ |
| Acidité produite | 35° SH | 40 – 70 °SH | 55 – 70 °SH | > 80 °SH | < 25 °SH |
| T° de croissance* (t° d'incubation) | 30 – 50 °C (38 °C) | 20 – 50 °C (38 °C) | | | 20 – 40 / 45 °C (38 °C) |
| Citratvergärung | non | | | | oui |
| Protéolyse | faible | moyenne | | forte | moyenne |
| Utilisation | fromage, yogourt | fromage | Yogourt, pâtes mi-dures | spécialités régionales | Culture complémentaire pour q.q. fromages |

Les cultures thermophiles

En production de Gruyère, les cultures thermophiles sont préparées à partir de petit-lait (PLM) ou de lait maigre stérilisé (CMB).

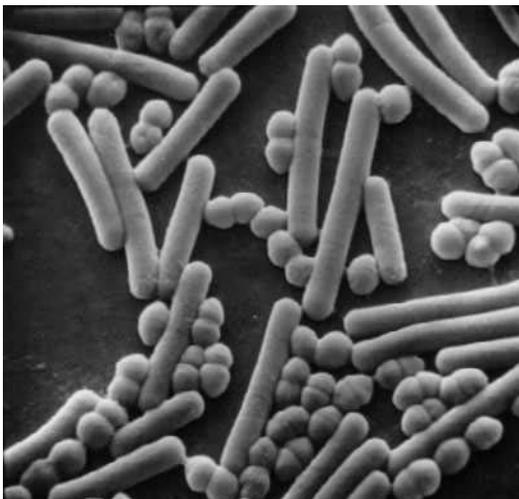


Photo de la CMB 302 dans un microscope électronique

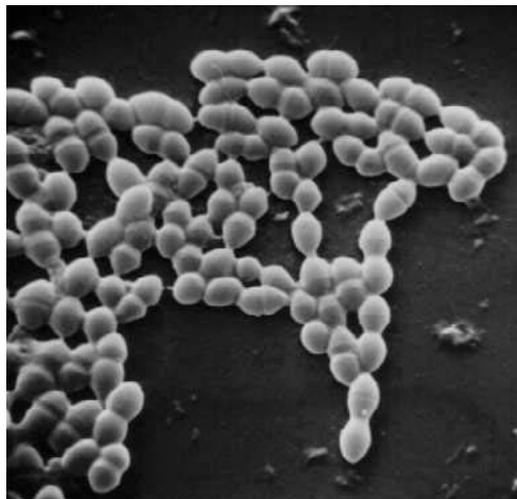


Photo de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* dans un microscope électronique

Le cahier des charges de l'IPG précise que si des CMB sont mises en œuvre pour la production de Gruyère, elles doivent l'être en complément aux PLM.

De plus, l'IPG a mandaté la FAM à développer des CMB spécifiques et exclusivement réservées aux fabricants de Gruyère AOC. Ceci pour mieux garantir l'authenticité de ce produit.

Un essai pratique est actuellement en cours. Il est prévu d'en faire une répétition au printemps 2003 et, si tout se passe bien, la première culture « Gruyère AOC » devrait être disponible à la fin 2003.

Les lactobacilles hétérofermentaires facultatifs (LHF)

Hétérofermentaire facultatif signifie capable d'adapter le métabolisme au milieu

- Conditions normales : métabolisme homofermentaire
- Milieu pauvre en sucre : métabolisme hétérofermentaire
- Milieu sans sucre : certaines souches sont capables de fermenter le citrate et de le transformer en acide formique, acétique et CO₂.

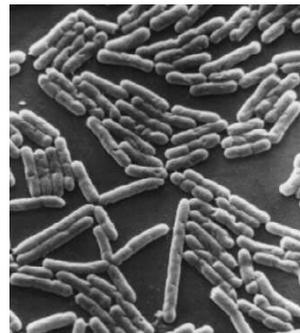


Photo de *Lactobacillus casei* dans un microscope électronique

Ce dernier point explique pourquoi, certains fromages qui contiennent trop d'acide formique, ont des défauts d'ouverture comme les becs, les lainures et les grosses ouvertures.

En production de fromages à pâte mi-dure, les LHF sont efficaces contre les points bruns formés par des colonies de propioniques et d'entérocoques. Ils sont capables de former de l'ouverture, lorsqu'ils sont utilisés conjointement à des cultures de lactocoques mésophiles. En production d'Emmental, ils sont employés pour améliorer la conservabilité en freinant le développement des propioniques, des entérocoques et des germes halotolérants.

Dans le Gruyère, les LHF provoquent des défauts d'ouverture comme des gros trous, des becs et des lainures ainsi qu'un goût atypique.

Il se peut que les Lb. hétérofermentaires facultatifs se retrouvent dans le lait des producteurs, dans le lait de chaudière et même dans les cultures au PLM. Comme décrit ci-dessus, les conséquences pour la qualité du Gruyère peuvent être fâcheuses.

Essais réalisés

Description de l'essais

Durant le mois de septembre et octobre 02, des cultures de petit-lait mûri ont été récoltées dans des fromageries. Elles ont été analysées dans le but de connaître leur qualité. Parallèlement, les cultures mixtes brutes de la FAM ont subi les mêmes analyses.

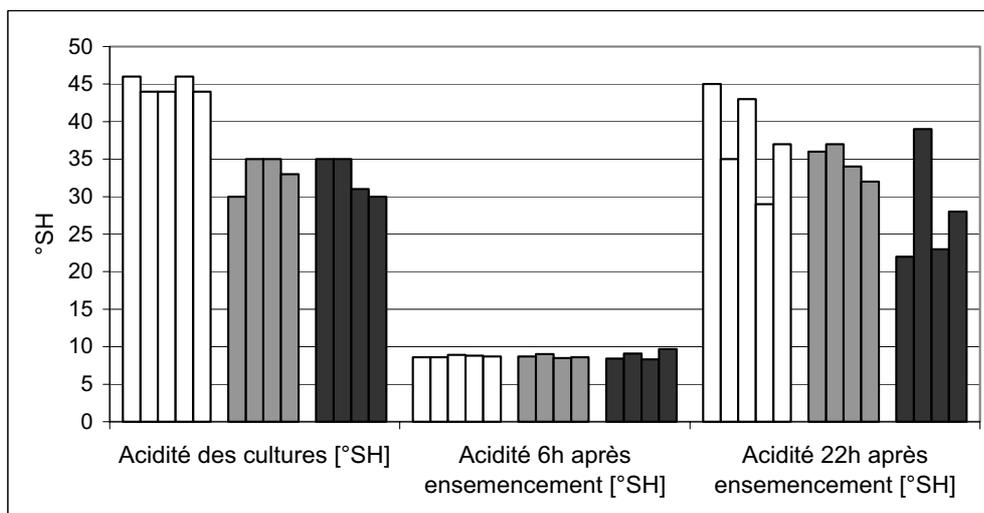
Quatre PLM proviennent de fromageries entièrement autonomes (n'utilisant aucune culture) et quatre autres de fromageries qui utilisent des cultures CMB en complément aux cultures sur petit-lait ou pour ensemercer les petits-laits. A chaque fois, c'est le mélange tel qu'ajouté à la chaudière qui a été analysé.

Le tableau suivant montre les analyses réalisées ainsi que les informations qu'elles nous donnent.

| Analyses | Informations données |
|--|--|
| Acidité après 6h. et 22h. d'un lait mis dans un simulateur de fabrication ensemené avec la culture en question | Comparaison de l'activité entre les CMB et les PLM |
| Dénombrement des bactéries lactiques | Information sur la concentration en bactéries lactiques des cultures |
| Dénombrement des lactobacilles hétérofermentaires facultatifs (LHF) | Permet de connaître s'il y a plus de risques d'en avoir avec les PLM |
| Dénombrement des lactobacilles hétérofermentaires obligés (LHO) | Permet de connaître s'il y a plus de risques d'en avoir avec les PLM |
| Dénombrement des entérocoques | Information sur la propreté de la culture (groupe de bactéries protéolytiques) |
| Acide lactique total et conformation L+/D- de la culture | Contrôle des proportions lactobacilles / streptocoques et de la présence de <i>L. helveticus</i> |

Résultats

Acidité et acidification :

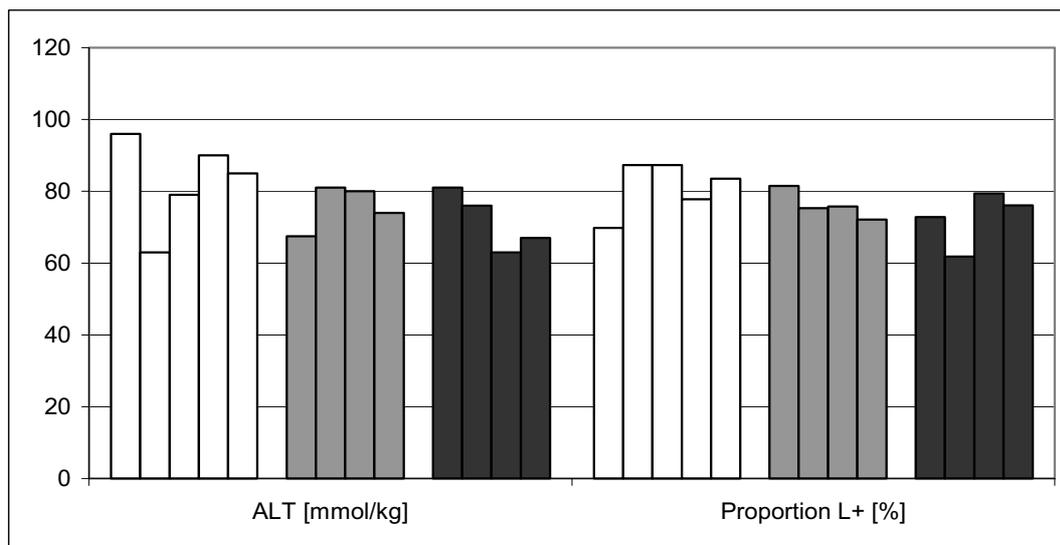


Acidité des cultures et d'un lait mis en simulateur de fabrication pour les cultures mixtes brutes (blanc), les petits-lait mûris (gris) et les petits-lait mûris ensemenés ou mélangés avec des cultures mixtes brutes (noir).

L'acidité des CMB est plus élevée que celle des PLM et des PLM/CMB. Cela provient du pouvoir tampon du lait. Les bactéries peuvent ainsi produire plus d'acide avant que le pH ne baisse au point de les inhiber.

Au niveau de l'acidification, aucune différence significative n'est remarquée après 6 heures d'incubation. Par contre, après 22 heures, les CMB ont tendance à être plus acide que les PLM qui ont eux-même tendance à être plus acide que les mélanges PLM/CMB.

Acide lactique total, proportion d'acide lactique L+



Acide lactique total et proportion d'acide lactique L+ pour les cultures mixtes brutes (blanc), les petits-lait mûris (gris) et les petits-lait mûrisensemencés ou mélangés avec des cultures mixtes brutes (noir).

La teneur en acide lactique total a tendance à être plus faible pour les cultures au petit-lait.

La proportion d'acide lactique L+ (produit par les streptocoques) a également tendance à être plus faible pour les PLM et les PLM/CMB. La différence n'est toutefois pas très importante et ne permet aucune affirmation

Dénombrement des bactéries :

La propreté lors de la préparation des petits-lait est un point sensible. On peut voir que dans plus de la moitié des cas, les petits-laits contiennent des entérocoques. Par ailleurs, presque toutes les cultures au petit-lait contiennent des lactobacilles hétérofermentaires facultatifs ainsi que parfois des lactobacilles hétérofermentaires obligés.

| Type de culture | lactiques | LHF | LHO | entérocoques |
|-----------------|------------|--------------|---------------|---------------|
| | millions/g | unité/g | unité/g | unité/g |
| CMB 202 | 320 | - | - | - |
| CMB 203 | 720 | - | - | - |
| CMB 280 | 75 | - | - | - |
| CMB 291 | 775 | - | - | - |
| CMB 292 | 35 | - | - | - |
| PLM 1 | 380 | 15 | < 1 | 90 |
| PLM 2* | 250 | 10 | < 1 | < 1 |
| PLM 3* | 145 | 25 | < 1 | < 1 |
| PLM 4 | 260 | 55 | < 1 | 5 |
| PLM/CMB 1* | 100 | 130 | 75 | < 1 |
| PLM/CMB 2* | 255 | 20500 | 600 | 6 |
| PLM/CMB 3 | 85 | 350 | < 1 | 21 |
| PLM/CMB 4 | 195 | 50 | 20 | 1 |

L'utilisation de caillette :

Dans quatre cas, des caillettes étaient ajoutées dans la culture acide. Il s'agit des PLM 2 et 3 et des PLM/CMB 1 et 2. Cet ajout n'a apparemment pas d'influence néfaste. La qualité microbiologique est égale aux autres cultures. Il faut toutefois noter que la caillette est ajoutée le soir après 8h d'incubation.

Signification pour la pratique / Conclusion :

Pour la mise en conformité avec le cahier des charges de l'AOC, l'IPG exige l'utilisation de cultures au petit-lait.

Remplacer une CMB par du PLM ne va pas bouleverser l'activité acidifiante.

Les cultures au PLM contiennent souvent des LHF, quelques fois des LHO et des entérocoques.

Attention : La présence de LHF peut provoquer des défauts d'ouverture de goût et de conservation dans le Gruyère. Les LHF sont réputés comme étant des producteurs d'amies biogènes. Les entérocoques sont capables de transmettre des résistances aux antibiotiques. Deux éléments qui constituent un danger potentiel pour l'image d'un produit comme le Gruyère.

La préparation de cultures au PLM doit faire l'objet du plus grand soin tant au niveau de la propreté que de l'exactitude.