



## Comportement de la souche probiotique *Lactobacillus gasseri* K7 dans le fromage à pâte mi-dure affiné

U. ZEHNTNER, Station de recherche Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, 3003 Berne

@ E-mail: [ulrich.zehntner@alp.admin.ch](mailto:ulrich.zehntner@alp.admin.ch)  
Tél. (+41) 31 32 38 264.

### Propriétés probiotiques de *L. gasseri* K7

La plupart des additifs probiotiques dans les produits laitiers européens se résument à quelques souches bien connues. *Lactobacillus casei* GG, *L. johnsonii* La1, *Bifidobacterium lactis* Bb-12 sont non seulement les micro-organismes probiotiques le plus souvent mentionnés, mais aussi le mieux étudiés. Après la première génération, divers instituts et universités étudient l'aptitude en tant que probiotique de toute une série d'organismes nouvellement isolés.

A l'intérieur du groupe des *Acidophilus*, auquel appartiennent des espèces comme *L. acidophilus* et *L. johnsonii*, certaines souches de l'espèce *L. gasseri* attirent actuellement l'attention des chercheurs. Dans des études indépendantes d'Asie, d'Afrique et d'Europe, elles ont été identifiées comme micro-organismes naturellement présents sur la peau et dans les intestins (Pavlova *et al.*, 2002; Bergonzelli *et al.*, 2005; Olivares *et al.*, 2006). Agroscope Liebefeld-Posieux ALP a acquis une licence pour la distribution en Suisse de l'une de ces souches, *L. gasseri* K7.

La souche K7 survit trois heures dans une solution de sel biliaire à 0,3% et se réduit de moitié dans un milieu acide (pH 3) pendant la même durée (Bogovic-Matijasic et Rogelj, 1999). Cette relative résistance est un facteur essentiel pour déterminer si une souche est capable de passer au travers de l'estomac et des intestins en quantité suffisante pour déployer son effet probiotique dans les intestins. Selon Bogovic-Matijasic *et al.* (2003), K7 est en mesure d'em-

### Résumé

L'aptitude technologique de deux souches de l'espèce *Lactobacillus gasseri* en tant qu'additifs dans le fromage a été étudiée. A cet effet, les souches ont été ajoutées à des cultures starters lors de la fabrication de deux fromages à pâte mi-dure (Tilsit et fromage à gros trous avec affinage en surface). La capacité de survie des souches *L. gasseri* a été testée à des intervalles de temps définis. Il s'est avéré que seule la souche K7 était détectable dans des concentrations supérieures à un million d'ufc/g pendant toute la période d'affinage de 90 jours, aussi bien dans le Tilsit que dans le fromage à gros trous. Le goût des fromages n'a pas été altéré par les souches probiotiques.

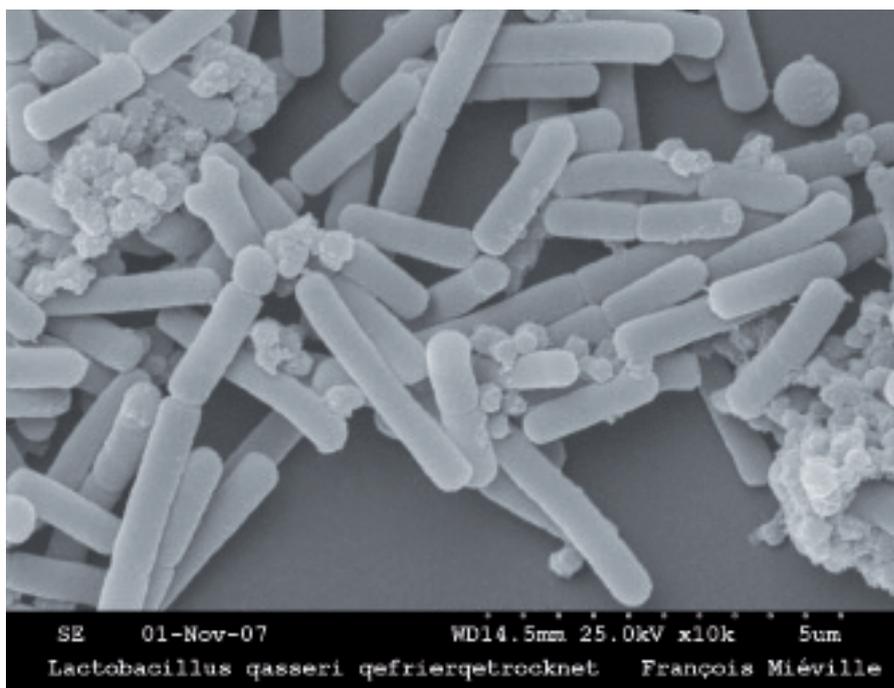


Fig. 1. Cellules lyophilisées de *Lactobacillus gasseri* K7 vues au microscope électronique à balayage (photo F. Miéville, ALP).

pêcher l'adhésion de *E. coli* aux cellules intestinales humaines caco-2.

L'utilisation de K7 en tant qu'additif probiotique dans les aliments pour animaux a été testée chez des porcelets sevrés (Bogovic-Matijasic *et al.*, 2004). La consommation d'aliments et la prise de poids n'ont pas été influencées par l'ajout de probiotiques. En revanche, la valorisation des aliments était significativement meilleure dans le groupe K7. La souche K7 présente des propriétés bactériocinogènes. En d'autres termes, l'effet potentiellement inhibiteur de la bactériocine produite par K7 sur les lactobacilles des cultures starters doit être testé pour toutes les souches présentes dans les cultures starters utilisées. Il semble que *Streptococcus thermophilus* ne soit pas concerné (Matijasic *et al.*, 2007).

Dans le travail décrit ci-après, la capacité de survie des souches *L. gasseri* dans le fromage à pâte mi-dure du type Tilsit et dans les fromages à gros trous a été étudiée.

## Fabrication du fromage d'essai

La culture mixte CM 401 (composée de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* et *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) de l'assortiment de cultures d'ALP a été utilisée comme culture starter. En outre, pour la fabrication du fromage à gros trous, une culture de bactéries propioniques de l'assortiment d'ALP a été utilisée.

Deux souches de *L. gasseri* ont été utilisées sous forme d'additifs concentrés:

- *Lactobacillus* K7 est un micro-organisme isolé des fèces d'un nourrisson âgé d'une semaine en Slovénie. En raison de sa morphologie (fig.1), du modèle de dégradation du substrat, des analyses de la paroi cellulaire et des études portant sur l'ADN ribosomal et le gène *tuf*, K7 a été attribuée à l'espèce *L. gasseri* (Bogovic-Matijasic et Rogelj, 1999 et 2000).
- *L. gasseri* 17266 fait partie de la collection de souches d'ALP; elle a été isolée et identifiée en 2002 (Chavagnat *et al.*, 2002).

Le fromage d'essai a été fabriqué selon les recettes standard d'ALP pour les fromages modèles à gros trous et les Tilsit modèles. Seule exception, la température maximale des Tilsit modèles s'élevait lors du chauffage et du brassage final à 38 °C au lieu des 44-43 °C prescrits. En plus des deux variantes fabriquées avec des additifs probiotiques, une variante de contrôle ne comprenant que des cultures starters a été fabriquée. Toutes les variantes ont été fabriquées le même jour avec le même lait pasteurisé et la fabrication a été répétée un autre jour.

L'ajout de cultures probiotiques concentrées (concentration minimale après centrifugation:  $> 10^{10}$  ufc/g) a eu lieu en même temps que l'ajout de la culture starter normale de sorte que la concentration souhaitée dans la cuve a atteint au moins  $10^7$  ufc/ml.

## Détection sélective de *L. gasseri*

Les souches de *L. gasseri* ont été déterminées quantitativement sur un milieu de culture MRS-tréhalose (sans glucose).

## Analyse sensorielle

L'évaluation du goût a été effectuée dans un test à l'aveugle par le panel de dégustation d'ALP comprenant douze dégustateurs entraînés.

## Capacité de survie différenciée pendant l'affinage

La concentration initiale des additifs probiotiques d'au moins  $10^7$  ufc/ml dans le lait de cuve a été atteinte dans toutes les variantes. La souche K7 a continué à se multiplier dans le fromage au cours de la première semaine et était ensuite détectable dans tous les échantillons tout au long de la diminution progressive des micro-organismes vivants, et ce jusqu'à la fin de la maturation du fromage après trois mois et dans des concentrations supérieures à  $10^6$  ufc/g (fig. 3).

*L. gasseri* 17266 a continué à se multiplier au cours de la première semaine de maturation dans trois des quatre fromages (fig. 2). Les concentrations sont restées à un niveau supérieur à  $10^7$  ufc/g même après trois et six semaines, puis elles ont diminué plus ou moins rapidement. Dans un fromage à gros trous, le nombre de germes a diminué après un jour et après une semaine pour atteindre 500 000 ufc/g et les germes n'étaient plus détectables dans les échantillons suivants.

Lors des évaluations sensorielles, le panel de dégustation n'a relevé aucune situation dans laquelle les deux échantillons doubles étaient différents des fromages de contrôle. Cela s'est avéré

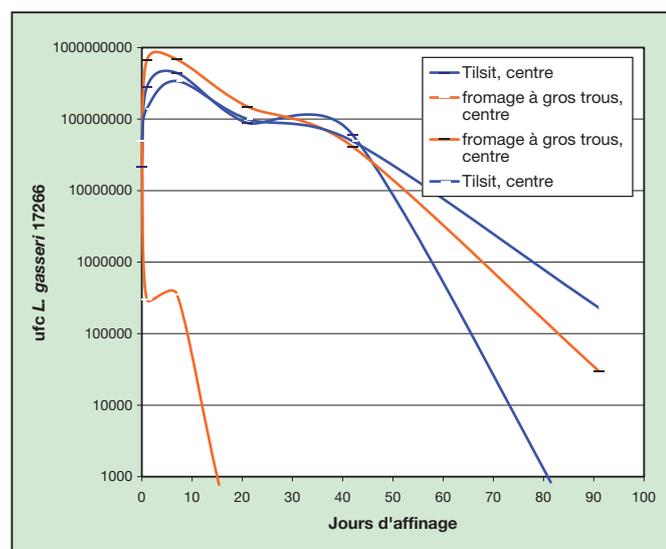


Fig. 2. Mise en évidence des cellules viables de *Lactobacillus gasseri* 17266 dans deux fromages à pâte mi-dure affinés pendant nonante jours.

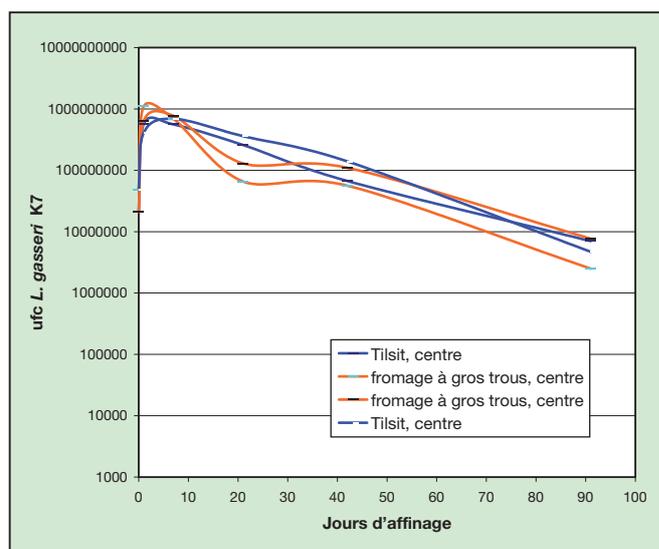


Fig. 3. Mise en évidence des cellules viables de *Lactobacillus gasseri* K7 dans deux fromages à pâte mi-dure affinés pendant nonante jours.

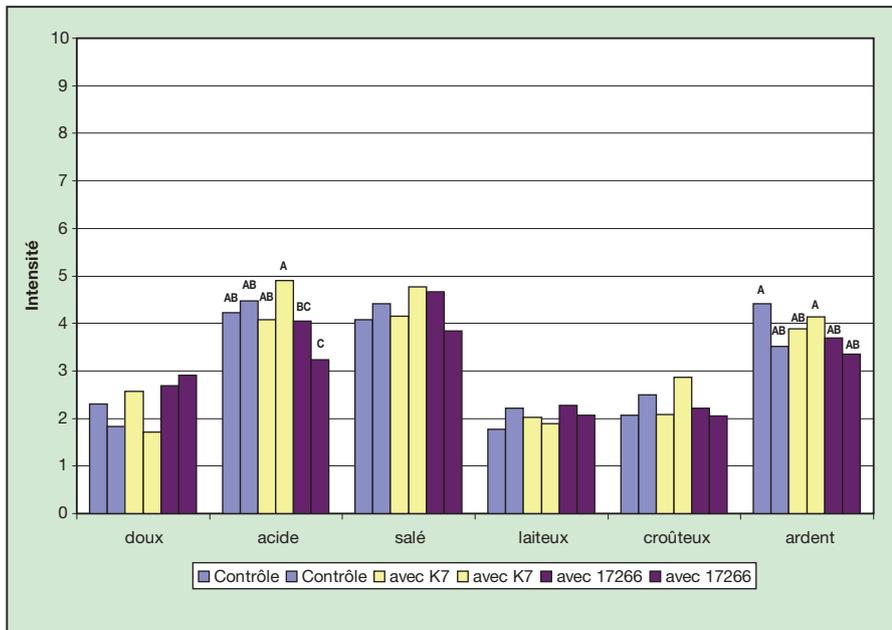
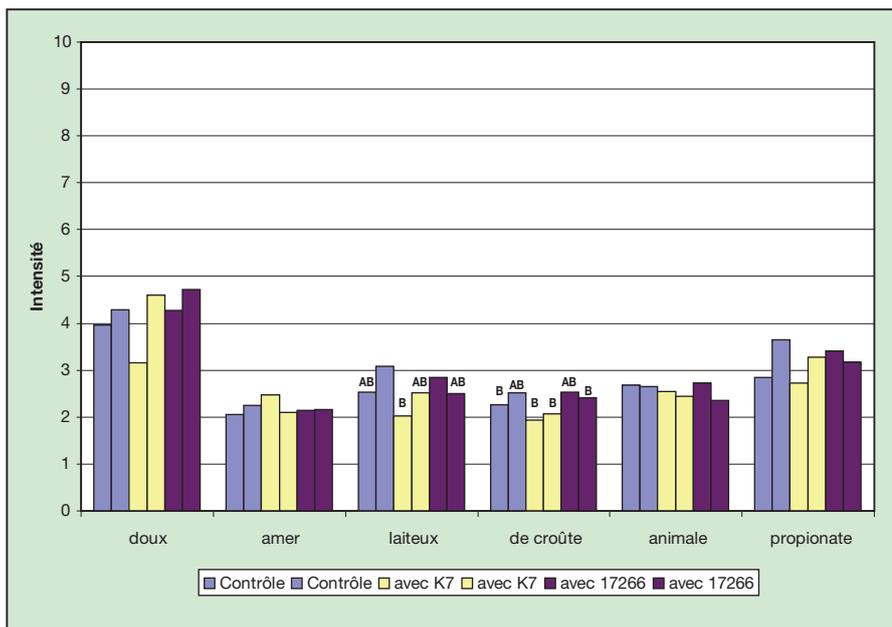


Fig. 4. Evaluation sensorielle des Tilsit (trois mois d'affinage) selon six critères d'un panel de dégustation (valeurs moyennes de douze examinateurs). Les différences de niveau entre les colonnes dépourvues de lettre ne sont pas significatives.

aussi bien pour le Tilsit que pour le fromage à gros trous (fig. 4 et 5). Les valeurs moyennes des évaluations de toutes les variantes se situaient dans le domaine de dispersion des valeurs usuelles pour ces sortes de fromages.

Fig. 5. Evaluation sensorielle des fromages à gros trous (trois mois d'affinage) selon six critères d'un panel de dégustation (valeurs moyennes de douze examinateurs). Les différences de niveau entre les colonnes dépourvues de lettre ne sont pas significatives.



## La souche K7 se prête à d'autres essais fromagers

Il est frappant de constater que le comportement de K7 est semblable dans les quatre fromages, indépendamment du jour de production et de la sorte de fromage. Après une augmentation du nombre de cellules au cours des premières vingt-quatre heures, on a observé une lente et constante diminution pendant trois mois qui n'est jamais allée au dessous du seuil de  $10^6$  ufc/g. Par contre, la capacité de survie de

*L. gasseri* 17266 est variable et peu fiable de sorte que son utilisation dans d'autres essais n'est pas recommandée. Par ailleurs, les résultats fournissent un indice supplémentaire, à savoir que l'aptitude technologique de toute souche potentiellement probiotique doit être testée individuellement.

Du point de vue du goût, les fromages fabriqués avec K7 ne sont influencés ni positivement ni négativement. Il en va de même du déroulement de l'acidification et de la maturation. Cela signifie qu'il n'est pas nécessaire de réévaluer les cultures starters utilisées dans un test dans lequel on examinerait l'influence de K7 sur les performances de celles-ci.

Vu les propriétés bactériocinogènes de K7, il y a lieu d'examiner d'une part sa compatibilité avec d'autres cultures starters et, d'autre part, son éventuel effet protecteur contre les bacilles butyriques dans le fromage en phase de maturation.

## Bibliographie

- Bergonzelli G.E., Blum S., Brüssow H. & Corthesy-Theulaz I., 2005. Probiotics as a treatment strategy for gastrointestinal diseases? *Digestion* **72** (1), 57-68.
- Bogovic-Matijasic B. & Rogelj I., 1999. Bacteriocinogenic activity of *Lactobacilli* isolated from cheese and baby faeces. *Food Technol. Biotechnol.* **37**, 93-100.
- Bogovic-Matijasic B. & Rogelj I., 2000. *Lactobacillus* K7 – A new candidate for a probiotic strain. *Food Technol. Biotechnol.* **38**, 113-119.
- Bogovic-Matijasic B., Narat M. & Zoric M., 2003. Adhesion of two *Lactobacillus gasseri* probiotic strains on Caco-2 cells. *Food Technol. Biotechnol.* **41**, 83-88.
- Bogovic Matijasic B., Stojkovic S., Salobir J., Malovrh Š. & Rogelj I., 2004. Evaluation of the *Lactobacillus gasseri* K7 and LF221 strains in weaned piglets for their possible probiotic use and their detection in the faeces. *Animal Res.* **53**, 35-44.
- Chavagnat F., Haueter M., Jimeno J. & Casey M. G., 2002. Comparison of partial tuf gene sequences for the identification of *Lactobacilli*. *FEMS Microbiol. Lett.* **217**, 177-183.
- Matijasic B. B., Rajsp M. K., Perko B. & Rogelj I., 2007. Inhibition of *Clostridium tyrobutyricum* in cheese by *Lactobacillus gasseri*. *Int. Dairy J.* **17**, 157-166.
- Olivares M., Diaz-Ropero M. P., Martin R., Rodriguez M. & Xaus J., 2006. Antimicrobial potential of four *Lactobacillus* strains isolated from breast milk. *J. Appl. Microbiol.* **101** (1), 72-79.
- Pavlova S. I., Kilic A. O., Kilic S. S., So J. S., Nader-Macias M. E., Simoes J. A. & Tao L., 2002. Genetic diversity of vaginal *Lactobacilli* from women in different countries based on 16S rRNA gene sequences. *J. Appl. Microbiol.* **92** (3), 451-459.

### Zusammenfassung

#### Das Verhalten des probiotischen Stammes *Lactobacillus gasseri* K7 in gereiftem Halbhartkäse

Die technologische Eignung von zwei Stämmen der Art *Lactobacillus gasseri* als Zusätze im Käse wurde geprüft. Dazu wurden die Stämme bei der Herstellung zweier verschiedener Halbhartkäse (Tilsiter und Grosslockkäse mit Oberflächenreifung) zusammen mit den Starterkulturen zugesetzt. In definierten zeitlichen Abständen wurde das Überleben der *L. gasseri*-Stämme geprüft. Es zeigte sich, dass nur der Stamm K7 in Konzentrationen über einer Million KbE/g während der ganzen 90-tägigen Reifungsperiode sowohl in Tilsiter wie auch in Grosslockkäse nachweisbar war. Im Geschmack wurden die Käse durch die probiotischen Zusätze nicht beeinträchtigt.

### Riassunto

#### Comportamento del ceppo probiotico *Lactobacillus gasseri* K7 nel formaggio a pasta semidura affinato

È stata esaminata l'idoneità tecnologica di due ceppi del genere *Lactobacillus gasseri* all'impiego quali additivi nel formaggio. Si è proceduto aggiungendo i ceppi alle colture starter per la fabbricazione di due varietà di formaggio a pasta semidura (Tilsiter e formaggio a occhiatura grande con crosta). A intervalli di tempo regolari è stata analizzata la capacità di sopravvivenza dei lattobacilli. Al termine della fase di affinatura, durata 90 giorni, il ceppo K7 era l'unico ancora presente nelle concentrazioni superiori a un milione di UFC/g sia nel Tilsiter che nel formaggio a occhiatura grande. Il gusto dei due formaggi non risultava alterato.

### Summary

#### Behaviour of the probiotic strain *Lactobacillus gasseri* K7 in ripened semi-hard cheese

Two strains of *Lactobacillus gasseri* were tested for their suitability as probiotic additives to cheese. They were added separately along the processing of semi-hard cheese (Tilsit type and Swiss type cheese) together with the starter cultures. Samples were drawn from the center region in defined intervals during the ripening phase to determine the survival of the probiotic strains. Only the strain K7 showed an ability to remain in concentrations above  $10^6$  cfu/g during the entire 90-day ripening period. No compromising effects were observed regarding acidification and flavour development by the addition of *L. gasseri* strains.

**Key words:** *Lactobacillus gasseri*, probiotic, cheese ripening, semi-hard cheese.

### Crochet peseur Balance de comptoir Pesée de récolte sur véhicule



**AgriTechno** L'agriculture de précision

Case postale 24 – CH-1066 Epalinges  
Tél. 021 784 19 60 – Fax 021 784 36 35

E-mail: [agritechno-lambert@bluewin.ch](mailto:agritechno-lambert@bluewin.ch) – [www.agritechno.ch](http://www.agritechno.ch)



EN 45001 / STS 213

SCHWEIZERISCHER PRÜFSTELLENDIENST  
SERVICE SUISSE D'ESSAI  
SERVIZIO DI PROVA IN SVIZZERA  
SWISS TESTING SERVICE

**Analyses et conseils de fumure:  
notre laboratoire accrédité  
et nos ingénieurs sont à  
votre disposition!**

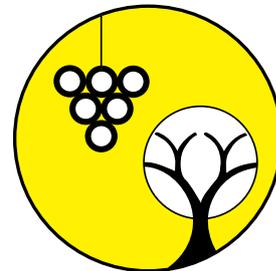
SOL-CONSEIL • Changins • CP 1381 • 1260 Nyon 1  
Tél. 022 363 43 04 • Fax 022 363 45 17  
E-mail: [sol.conseil@acw.admin.ch](mailto:sol.conseil@acw.admin.ch)  
[www.acw.admin.ch](http://www.acw.admin.ch)

## LES PROFESSIONNELS

des secteurs viticoles,  
arboricoles et horticoles romands  
verront

## VOTRE PUBLICITE

dans la



Revue suisse de viticulture  
arboriculture et horticulture

Régie des annonces: PRAGMATIC SA Tél. 022 736 69 13  
Avenue Saint-Paul 9 CH-1223 Coligny Fax 022 786 04 23