

➤ Botanische und bakterielle Vielfalt auf der Weide: Welcher Zusammenhang besteht mit der sensorischen Qualität von Rohmilchkäse vom Typ Cantal?

Elisa Manzocchi^{1,2*}, Bruno Martin², Cécile Bord¹, Matthieu Bouchon³, Joël Bérard⁴, Mauro Coppa^{2#},
Céline Delbès¹, et Isabelle Verdier-Metz¹

¹Université Clermont Auvergne, INRAE, VetAgro Sup, UMR Fromage, Aurillac, Frankreich

²Université Clermont Auvergne, INRAE, VetAgro Sup, UMR Herbivores, Saint-Genès-Champanelle, Frankreich

³INRAE, UE Herbipôle, Marcenat, Frankreich

⁴Produktionssysteme Tiere und Tiergesundheit, Agroscope, Posieux, Schweiz

*Aktuelle Adresse: Wiederkäuerernährung und -emissionen, Agroscope, Posieux, Schweiz

#Aktuelle Adresse: Dipartimento Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università di Torino, Torino, Italien



➤ Kontext

- Einfluss der botanischen Zusammensetzung von Wiesen und Weiden auf die sensorischen Eigenschaften von Rohmilchkäse:
 - Käsefarbe ← Karotenoide (Nozière *et al.*, 2006)
 - Textur der Käse ← Fettsäureprofil (MUFA:SFA-Verhältnis) (Coppa *et al.*, 2011)
 - Geruch und Aromen ← ???
- Mikrobiom in Milch und Käse spielt eine wichtige Rolle bei der Bildung von Käsearomen
- Mikrobiom in Milch und Käse wird stark von der Melkpraxis beeinflusst, aber auch die Umgebung des Betriebs und das Weidesystem haben einen Einfluss darauf (Verdier-Metz *et al.*, 2012; Fréтин *et al.*, 2018)

Welche Auswirkungen hat die botanische Artenvielfalt der Weiden auf die Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaften entlang der gesamten Produktionskette von Rohmilchkäse und auf seine sensorischen Eigenschaften?



➤ Material und Methoden

- Versuchsbetrieb INRAE Herbipôle, Marcenat, 1'100 m ü. M., Massif Central
- Zwei kontrastreiche Systeme, auf zwei benachbarten Wiesen:
 - 1 Monat auf den jeweiligen Parzellen
 - Vollweide - keine Ergänzungsfütterung



Weide mit hoher Artenvielfalt (HD)

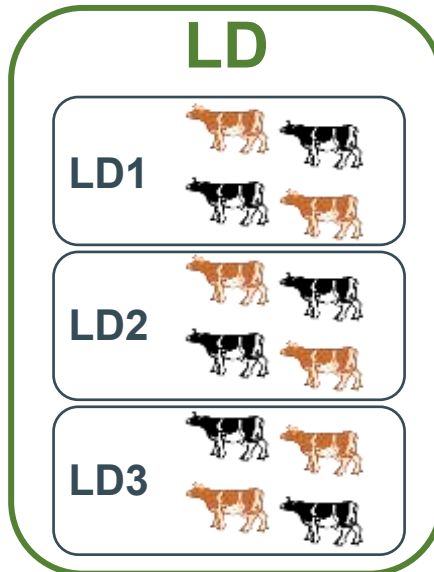
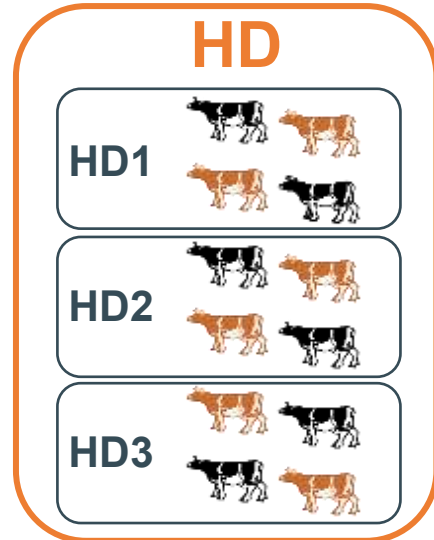
- Dauergrünland
- 74 botanische Arten erfasst
- Shannon-Diversitätsindex : **H' 312**



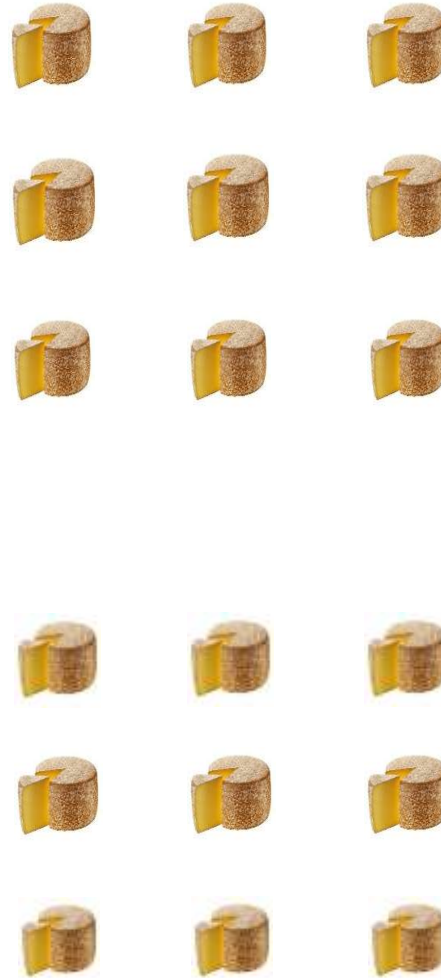
Weide mit niedriger Artenvielfalt (LD)

- Ehemaliges temporäres Grünland
- 31 botanische Arten erfasst
- Shannon-Diversitätsindex : **H' 219**

➤ Material und Methoden



Wo. 1 Wo. 2 Wo. 3



Vorteil
Echte
Wiederholung der
Behandlungen

Untergruppen

- je 4 Kühe (2 Montbéliarde, 2 Prim'Holstein)
- Ausgeglichen nach:
 - Laktationsstadium
 - Milchleistung
 - Milchfett und -eiweiss

Käsemodell

- Rohmilch, Cantal-Typ
- Morgengemelk
- Starter- und Reifungskulturen für Cantal
- Simultane Herstellung/Gruppe/Tag
- 12 Wochen Reifezeit
- Gewicht: ~500 g/Käse

Metabarcoding von Bakteriengemeinschaften entlang der Produktionskette von Käse

«Simulierte Bisse»



Milch



Käserinde



Käseteig

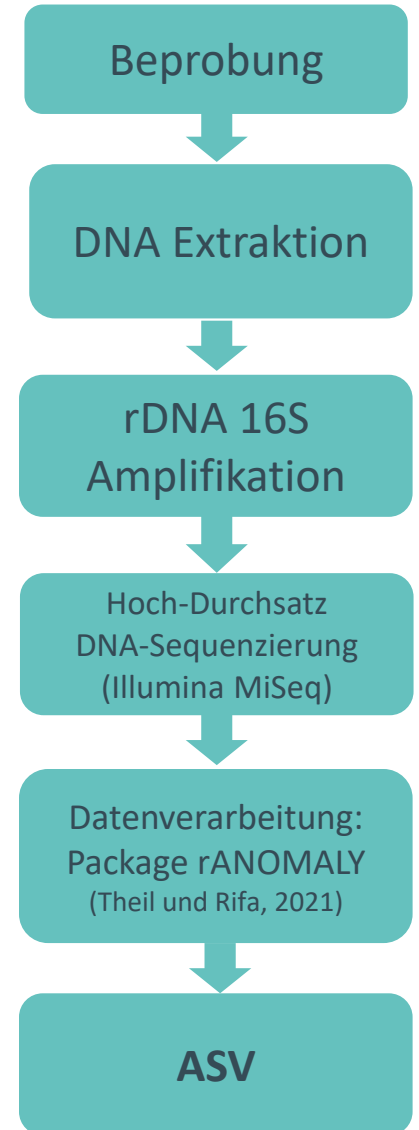


Für jeden einzelnen Kompartiment:

→ **Anzahl der Varianten von Amplikon-Sequenzen (ASV)** (= individuelle und einzigartige DNA-Sequenzen)

→ Identifizierung der Bakterien auf Gattungsebene

→ **Berechnung des Shannon-Diversitätsindex**



➤ Analyse der sensorischen Eigenschaften

- 10 geschulte Experten
- 1 Session pro Käseherstellung, 6 Sessionen
- Sequenzielle monadische Vorstellung der Proben
- 25 sensorische Deskriptoren, die auf einer unstrukturierten Skala bewertet wurden:



- Lexikon:

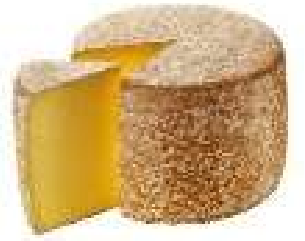
Aussehen und Textur	Geruch	Geschmack und Aromen
Farbe des Teigs Fettexsudat	Trockenfrüchte Milchsäure Tierisch	Sauer/Bitter/Salzig Trockenfrüchte Pflanzlich
Festigkeit beim Anfassen Festigkeit im Mund Zart schmelzend («fondant»)	Silage	Milchig Tierisch Pikant/Scharf Globale Persistenz



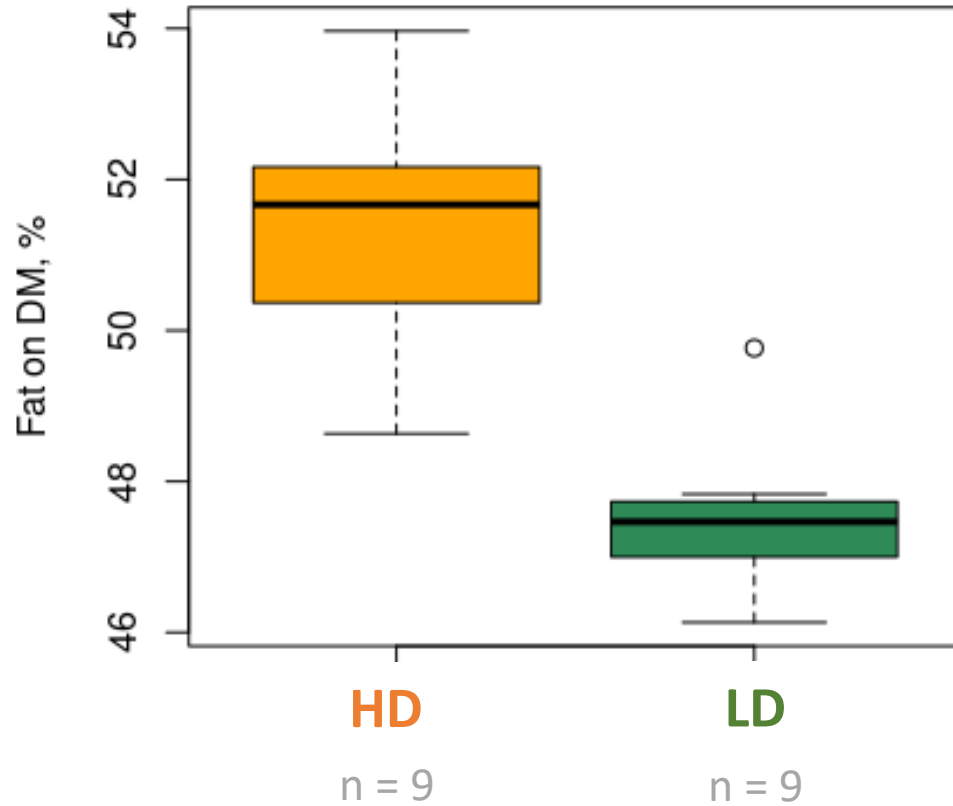
Sensorik-Labor, VetAgro Sup

- **Datenanalyse:** gemischte lineare Modelle (SAS 'mixed'-Verfahren) mit Session und Experte als zufällige Effekte

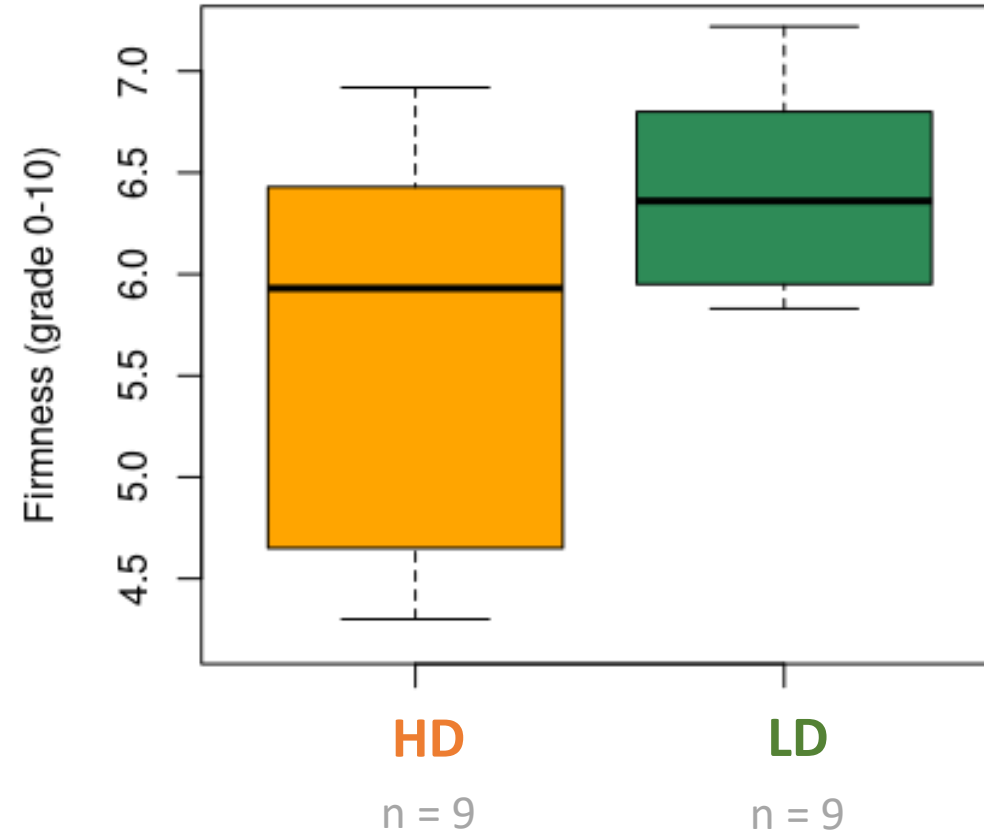
➤ Textur der HD und LD Käse



Fett in Trockenmasse
($P < 0.001$)



Festigkeit (im Mund)
($P = 0.092$)

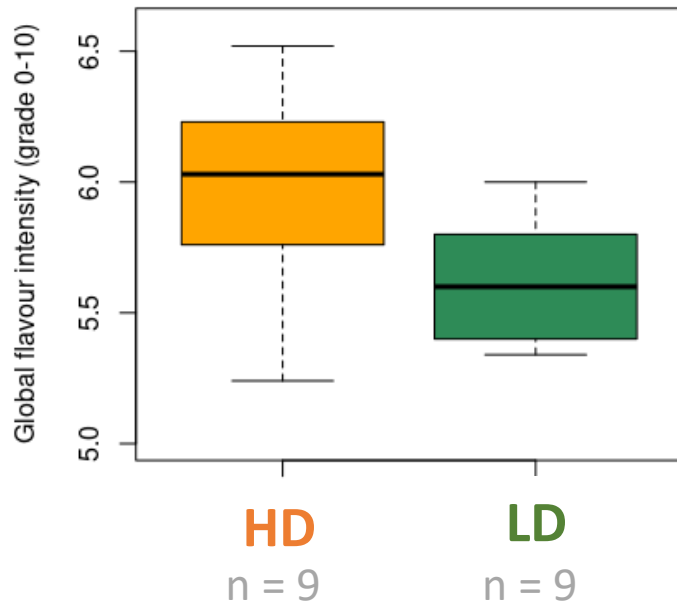


Manzocchi *et al.* (2022)

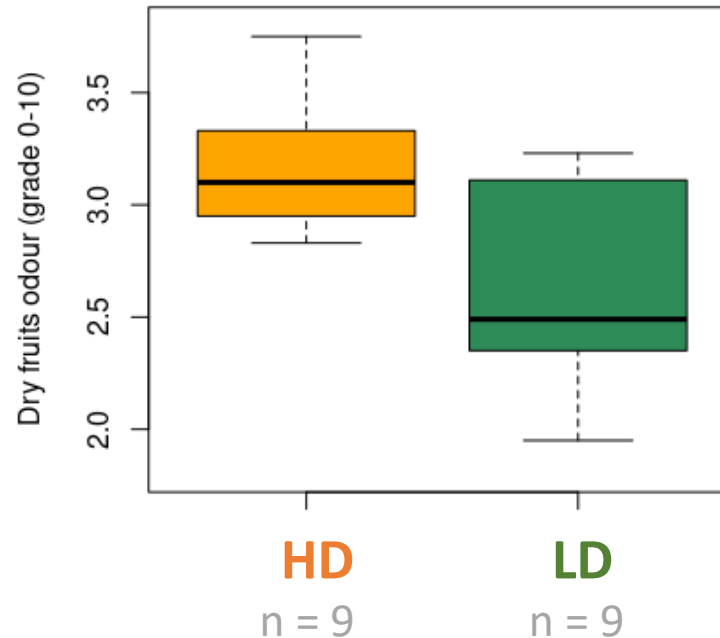
➤ Sensorische Eigenschaften von HD und LD Käse



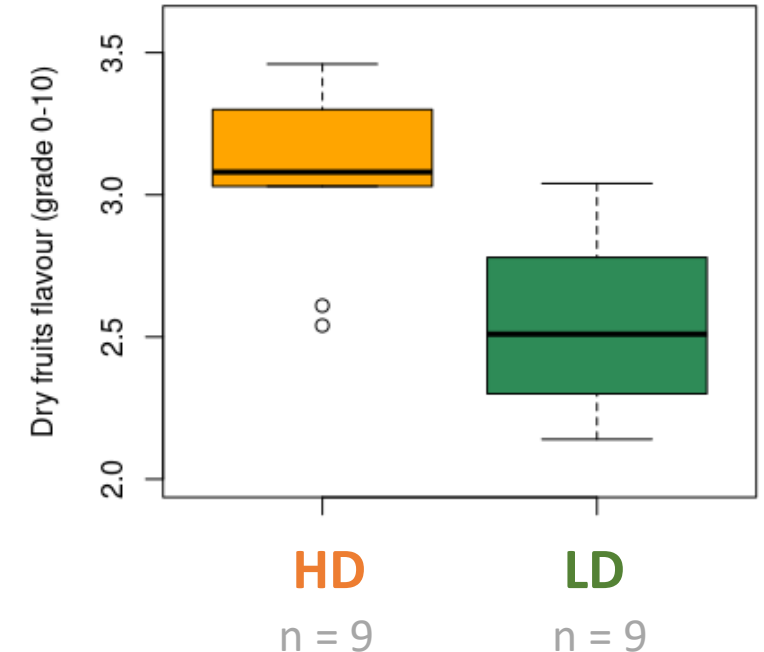
Globales Aroma
($P = 0.128$)



Geruch - Trockenfrüchte
($P = 0.038$)



Aroma - Trockenfrüchte
($P = 0.004$)

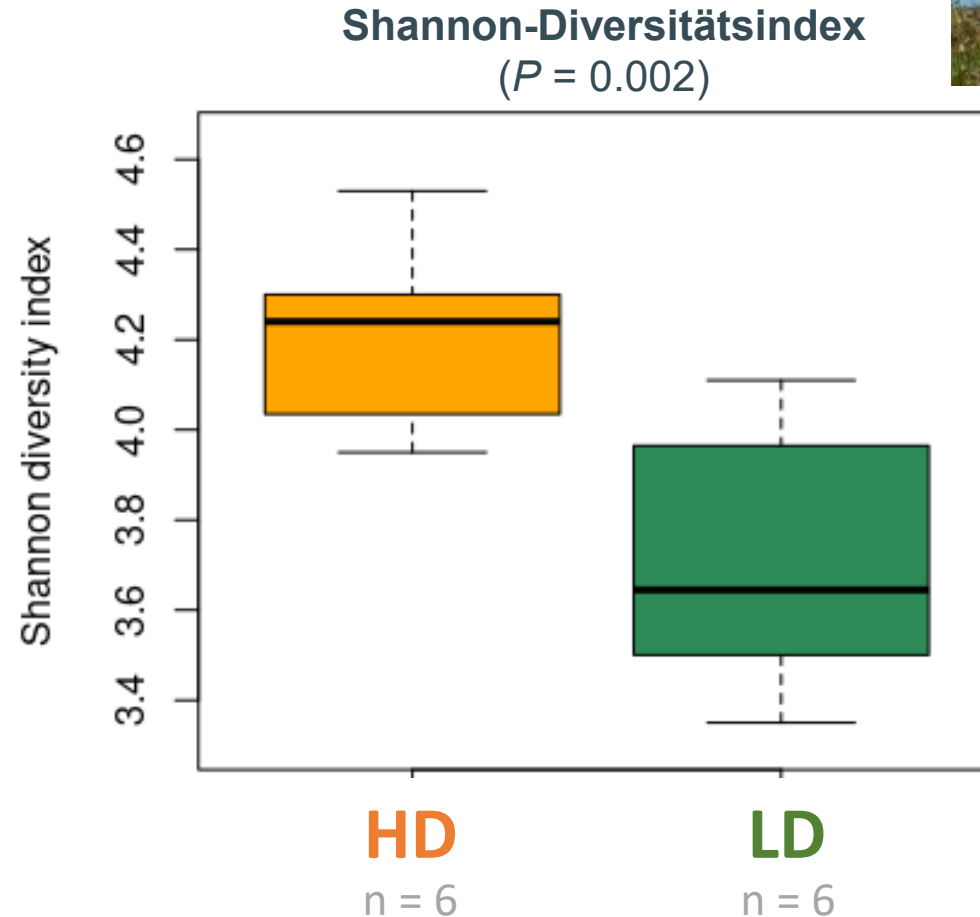
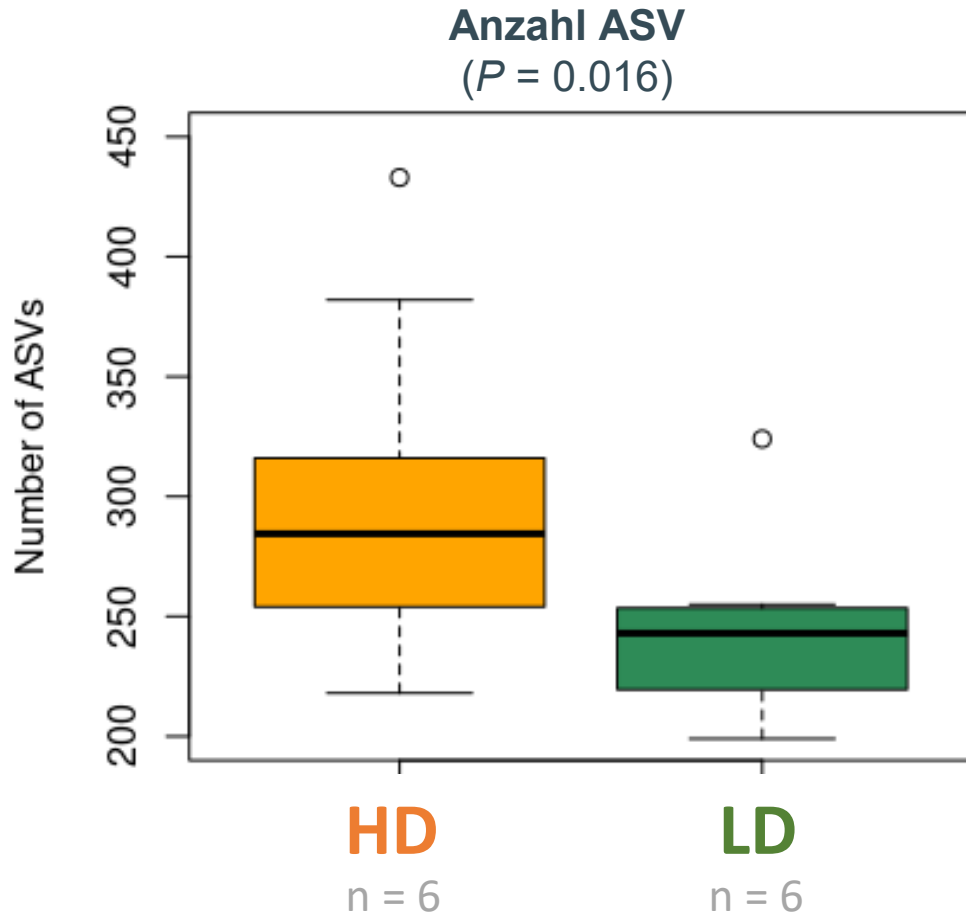


- Keine signifikanten Unterschiede bei den anderen sensorischen Deskriptoren zwischen HD und LD Käse

Manzocchi *et al.* (2022)

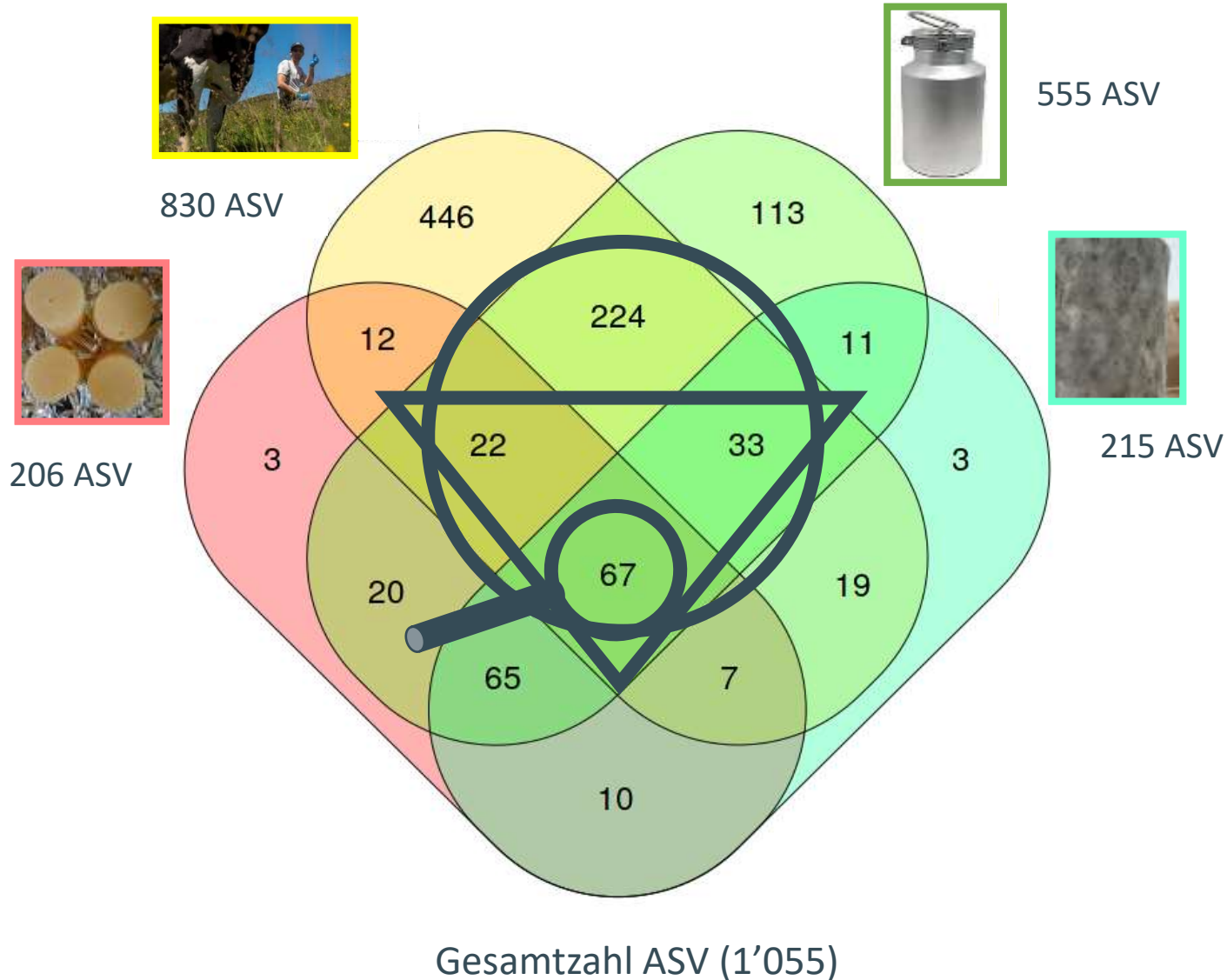


Unterschiedliche Anzahl und Vielfalt der bakteriellen ASV in den «simulierten Bissen»



- Die Gesamtzahl der ASV und der Shannon-Diversitätsindex unterschieden sich nicht in der Milch, sowie im Käseteig und in der Käserinde der beiden Weiden **HD** und **LD**

➤ Die Bakteriengemeinschaften teilen gemeinsame ASV

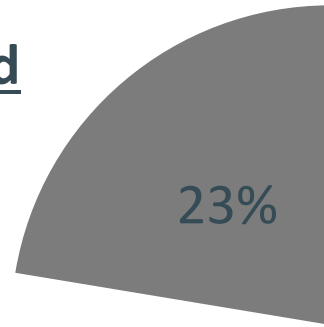


- **62%** der in der Milch gefundenen ASV werden mit den simulierten Bissen geteilt
- **46%** der in dem Käse (Rinde+Teig) gefundenen ASV werden mit der Milch und den «simulierten Bissen» geteilt

Manzocchi *et al.* (2022)

➤ Unter den 67 ASV, die von allen bakteriellen Gemeinschaften geteilt werden...

ASV in **HD** und **LD** gefunden



ASV, welche nur im **LD** System gefunden wurden

ASV, welche nur im **HD** System gefunden wurden

ASV **HD** oder **LD** gefunden

Die häufigsten ASV, die **HD** und **LD** Systeme gemeinsam haben...

ASV name	Relative abundance in bacterial community (%)				Species
	Simulated bites	Milk	Cheese core	Cheese rind	
2535950da4f5ce2e05509946880e1912	0.20	5.94	93.03	49.40	<i>Lactococcus lactis</i>
4b7d82b0d94caafd265a16ec66ded57e	0.005	0.004	0.008	17.31	<i>Brachy bacterium sp.</i>
17dfc19d75554282393e010d9c051027	0.018	0.0009	0.0061	8.20	<i>Brevibacterium aurantiacum</i>



Anerkannte Rolle bei der Käse reifung

➤ Schlussfolgerungen

- Die Käse **HD** und **LD** unterscheiden sich hauptsächlich durch den Geruch und das Aroma von Trockenfrüchte sowie durch ihre Festigkeit
 - 46% der in Käse (Teig und Rinde) gefundenen ASV sind den Gemeinschaften in den Kompartimenten „Milch“ und „simulierte Bissen“ gemeinsam.
 - Einige Gattungen, die in allen Kompartimenten identifiziert wurden, haben eine anerkannte Rolle bei der Käsereifung
 - Einige ASV sind spezifisch für das Weidesystem **HD** oder **LD**
- ➔ **Die Selektion und Anreicherung der bakteriellen Ressourcen beginnt auf der Weide und setzt sich während der gesamten Herstellung des Rohmilchkäses fort**



Ausblick

- Analyse anderer mikrobieller Gemeinschaften, die für Rohmilchkäse von Interesse sind (Pilze und Hefen)

➤ **Danke für Ihre Aufmerksamkeit!**



Finanzierung:

- INRAE Projektauftrag MICA 2019
- IDEX-ISITE-Initiative der französischen Regierung 16-IDEX-0001 (CAP 20-25)
- Transnationaler Zugang zu Forschungsinfrastrukturen im Rahmen des H2020-Programms der Europäischen Kommission (Projekt SmartCow, Nr. 730924)
- ETH Zürich (Prof. em. Dr. Kreuzer) und Schaumann Stiftung Hannover

Kontakte: Elisa Manzacchi – elisa.manzocchi@agroscope.admin.ch

Isabelle Verdier-Metz – isabelle.verdier-metz@inrae.fr

➤ Literatur

- Behrendt U., Müller T., and Seyfarth, W. (1997). The influence of extensification in grassland management on the populations of micro-organisms in the phyllosphere of grasses. *Microbiological Research* 152, 75–85.
- Coppa M., Feraly A., Monsallier F., Verdier-Metz I., Pradel P., Didienne R., Farruggia A., Montel M.C., Martin B. (2011). Milk fatty acid composition and cheese texture and appearance from cows fed hay or different grazing systems on upland pastures. *Journal of Dairy Science* 94, 1132–1145.
- Frétin M., Martin B., Rifa E., Verdier-Metz I., Pomiès D., Ferlay A., ... Delbès C. (2018). Bacterial community assembly from cow teat skin to ripened cheeses is influenced by grazing system. *Scientific Reports* 8, 200.
- Manzacchi E., Martin B., Bord C., Verdier-Metz I., Bouchon M., De Marchi M., ... Coppa M. (2021). Feeding cows with hay, silage, or fresh herbage on pasture or indoor affects sensory properties and chemical composition of milk and cheese. *Journal of Dairy Science* 104, 5285–5302.
- Manzacchi E., Martin B., Bord C., Bouchon M., Bérard J., Coppa M., Delbès C., Verdier-Metz I. (2022) Bacterial and botanical diversity of the pasture influence the raw milk cheese sensory properties. *Grassland Science in Europe Vol. 27 – Grassland at the heart of circular and sustainable food systems*, 659–661.
- Martin B., Verdier-Metz I., Buchin S., Hurtaud C., Coulon J.-B. (2005). How do the nature of forages and pasture diversity influence the sensory quality of dairy livestock products? *Animal Science* 81, 205–212.
- Nozière P., Graulet B., Lucas A., M-artin B., Grolier P., Doreau M. (2006). Carotenoids for ruminants: from forages to dairy products. *Animal Feed Science and Technology* 131, 418–450.
- Theil S., and Rifa E. (2021) rANOMALY: Amplicon workflow for microbial community analysis. *F1000 Research* 10, 7.
- Verdier-Metz I., Michel V., Delbès C., Montel M.-C. (2009) Do milking practices influence the bacterial diversity of raw milk? *Food Microbiology* 26, 305–310.
- Verdier-Metz I., Gagne G., Bornes S., Monsallier F., Veisseire P., Delbès-Paus C., Montel M.-C. 2012. Cow Teat Skin, a Potential Source of Diverse Microbial Populations for Cheese Production. *Applied and Environmental Microbiology* 78.