

Tête de moine AOP: une nouvelle culture pour certifier son origine

John Haldemann, Hélène Berthoud, Alexandra Roetschi, Ueli von Ah, Deborah Rollier et Elisabeth Eugster
 Station de recherche Agroscope Liebefeld-Posieux ALP-Haras, 3003 Berne, Suisse
 Renseignements: John Haldemann, e-mail: john.haldemann@agroscope.admin.ch, tél. +41 31 323 43 34



Figure 1 | Aucune anomalie n'a été constatée entre les contrôles (en haut à gauche) et les fromages d'essai lors de la comparaison des photos de coupes des Tête de Moine fabriquées lors de l'essai en fromagerie.

En tant que produits fabriqués traditionnellement dans une aire géographique déterminée, les produits agricoles pourvus d'une appellation d'origine protégée (AOP) bénéficient sur le marché d'une valeur ajoutée. Or, il arrive souvent que ces produits soient l'objet de contrefaçons. Agroscope, à Liebefeld, a donc mis au point une méthode basée sur une culture bactérienne traceuse qui permet désormais de certifier l'origine de la Tête de Moine AOP. Cette culture de certification de l'origine est utilisée depuis janvier 2013.

Chaque année, des sommes importantes tombent dans l'escarcelle de faussaires qui fabriquent des contrefaçons, privant les fabricants de Tête de Moine de revenus importants. Ces faussaires mettent illégalement sur le marché des imitations de Tête de Moine qui ne respectent pas les directives strictes du cahier des charges AOP. Pour lutter et pour protéger le consommateur

contre les fraudes, Agroscope a développé un nouveau procédé à la fois efficace et bon marché. Son principe est simple: il consiste à identifier à l'aide d'analyses par biologie moléculaires des souches de bactéries traceuses, ensemencées sous la forme de cultures lors de la fabrication fromagère. L'identification des bactéries traceuses s'effectue par une analyse de leur patrimoine génétique (Eugster *et al.* 2013; Eugster *et al.* 2011). A l'instar d'un test de paternité, ces bactéries peuvent être identifiées dans un morceau de Tête de Moine AOP (World Intellectual Property Organization 2011).

Développement de cultures à Liebefeld: des compétences de haut niveau et une solide expérience

Entreprise par une équipe de 12 personnes, l'aventure des cultures pour la certification de l'origine (CCO) a commencé il y a une dizaine d'années. En 2006, des cultures AOP pour le Gruyère ont été développées. Elles

Tableau 1 | Déteabilité spécifique de trois souches traceuses dans la Tête de Moine (essai en installation pilote)

Taux d'inoculation ufc/ml	Souche A			Taux d'inoculation ufc/ml	Souche B			Taux d'inoculation ufc/ml	Souche C		
	1 m	3 m	6 m		1 m	3 m	6 m		1 m	3 m	6 m
Sans				10 ³	-	-	-	10 ³	-	-	-
Sans				10 ⁴	+	+	+	Sans			
Sans				10 ⁴	+	+	+	Sans			
Sans				Sans				10 ⁴	-	-	-
Sans				Sans				10 ⁵	-/+	+	-/+
10 ²	+	+	+	10 ⁵	+	+	+	10 ³	-	-	-
10 ²	+	+	+	10 ⁵	+	+	+	10 ⁴	-	-	-

+: détection positive: par réaction, le nombre de copies dépasse 10⁴.

-: détection négative: par réaction, le nombre de copies est inférieur à 10³.

+/-: résultat équivoque: le nombre de copies par réaction se situe entre 10³ et 10⁴.

ont été suivies en 2011 par la CCO pour l'Emmentaler AOP. Comme Agroscope ne vend ces cultures qu'à des fromageries suisses, l'identification des souches dans le fromage est un indicateur sûr de la fabrication du fromage sur territoire suisse. Intéressées par les résultats probants de cette méthode, d'autres interprofessions ont mandaté Agroscope pour le développement de cultures destinées à la certification de l'origine de leurs fromages: parmi elles, l'interprofession de la Tête de Moine.

Dans un premier temps, il a fallu mettre la main sur des bactéries appropriées, naturellement présentes dans la Tête de Moine, survivant à la fabrication et qui, par ailleurs, soient encore identifiables après une durée d'affinage de 3 à 6 mois. Dernier point mais non des moindres, ces cultures ne devaient modifier ni l'apparence ni les propriétés organoleptiques du fromage. De telles bactéries ont été rapidement trouvées dans la collection de souches d'Agroscope, qui compte quelque 13'000 isolats de bactéries. Le choix s'est porté sur des bactéries lactiques provenant de la région d'origine de la Tête de Moine. Ensemencées en très petites quantités dans le lait de cuve, elles se sont avérées identifiables

après une durée d'affinage de six mois, tant dans le fromage prêt à la consommation que dans les rosettes. L'étape ultérieure a consisté à trouver, parmi ces bactéries lactiques, des souches adaptées qui, au travers de séquences spécifiques à la souche, soient identifiables au moyen d'analyses par biologie moléculaire.

Séries d'essai de longue haleine

L'adéquation des bactéries lactiques sélectionnées a été testée en laboratoire et dans la pratique. Trois souches (A, B et C) de ces bactéries ont été sélectionnées pour les tests d'utilisation en installation pilote et en fromagerie. Les résultats de deux essais sont présentés ci-après. Les bactéries traceuses peuvent, selon le dosage, influencer la teneur en acides aminés libres de même que la valeur pH et la formation de gaz dans le fromage. Plus le dosage de la culture de certification de l'origine est élevé, plus la teneur en acides aminés libres augmente (mesurée avec la méthode OPA) de même que la valeur pH (1,2). Autrement dit, l'équilibre entre déteabilité des bactéries traceuses et leur influence sur la qualité du fromage doit être optimal. >

Tableau 2 | Valeurs moyennes (n=7) des résultats des analyses chimiques après 100 jours d'affinage

Variante	Total AAL (OPA) mmol/kg	Total AAL (HPLC) mg/kg	Total AGV mmol/kg	Acide citrique mmol/kg	Valeur pH	Amines biogènes mg/kg
Contrôle	196,7	21 383	15,7	5,5	5,68	599
ABC	216,7	na	17,9	5	5,7	na
AB	201,7	21 925	17,3	5,2	5,7	524
AC	191,5	na	14,8	5,6	5,64	na
Sans	196,7	21 383	15,7	5,5	5,68	599
Avec	203	21 925	16,6	5,3	5,68	524
Test de T	ns	ns	ns	ns	ns	ns

na: non analysé.

ns: non significatif.



Figure 2 | Culture lyophilisée CCO-TdM.

Dans un essai en installation pilote, les trois bactéries traceuses (souches A, B et C) ont été ajoutées en diverses concentrations – seules ou combinées. La souche A,ensemencée dans la cuve à un taux d'inoculation de 10^2 ufc/ml, a pu être identifiée dans le fromage pendant toute la durée d'affinage (tabl. 1). Quant à la souche B, son identification dans le fromage est garantie à partir d'un taux d'inoculation de 10^4 ufc/ml de lait de cuve. Un taux de 10^5 ufc/ml n'étant pas intéressant du point de vue économique, la souche C n'entre donc pas en ligne de compte comme culture de certification de l'origine.

L'effet des bactéries traceuses sélectionnées sur les propriétés organoleptiques du fromage prêt à la consommation a été étudié dans plusieurs essais réalisés en fromagerie. La courbe du pH, la formation d'acides aminés libres, d'amines biogènes de même que de gaz en particulier ont fait l'objet d'observations attentives. Le tableau 2 montre les résultats des analyses chimiques de la Tête de Moine à 100 jours. Sept des huit fromageries fabricant de la Tête de Moine ont participé à cet essai. La quantité de bactériesensemencée dans le lait de cuve dans le cas de la variante ABC était de 10^2 ufc/ml pour la souche A et de 10^3 ufc/ml pour les souches B et C; dans le cas de la variante AB, la quantité inoculée était de 10^2 ufc/ml pour la souche A et de 5×10^4 ufc/ml pour la souche B; et finalement dans le cas de la variante AC, elle était de 10^2 ufc/ml pour la souche A et de 10^5 ufc/ml pour la souche C.

Les analyses par biologie moléculaire ont permis de détecter les deux souches A et B dans tous les échantillons. A l'instar des essais réalisés en installation pilote, la souche C s'est révélée difficilement identifiable dans les

essais effectués en fromagerie. L'analyse en laboratoire au moyen d'un test de T des échantillons de fromage n'a montré aucune différence significative entre les échantillons de fromages fabriqués avec des bactéries traceuses et les échantillons de contrôle. La variation entre les sept fromageries s'est avérée plus importante que l'ensemencement des souches.

La comparaison des photos de coupes des fromages de contrôle (sans bactéries traceuses) avec les fromages d'essai n'a pas révélé de différence au niveau de la formation de l'ouverture (fig. 1).

Culture lyophilisée standardisée

Parallèlement, un processus de fabrication pour la production d'une culture lyophilisée standardisée (fig. 2) a été mis au point par l'équipe des cultures d'Agroscope à Liebefeld. Depuis le 1^{er} janvier 2013, la CCO-TdM (culture pour la certification de l'origine de la Tête de Moine) prête à l'emploi est envoyée tous les trois mois aux fromageries de Tête de Moine AOP. Si les bactéries lactiques inoculées lors de la fabrication ne peuvent pas être identifiées dans le fromage (morceau ou rosettes) par les analyses prévues, il faut en déduire qu'il s'agit d'une contrefaçon. ■

Bibliographie:

- Eugster E., Wechsler D. & Von Ah U., 2013. Keine Nachsicht mehr mit Emmentaler Fälschern, dms 2/2013.
- Eugster E., Guggenbühl B. & Wechsler D., 2011. Käsefälschern geht es nun an den Kragen, Lebensmittel-Technologie 4.
- World Intellectual Property Organization, Authentication method of dairy products, WO 2011/039359 A2, 7. April 2011.