



## Caractérisation du Raclette du Valais AOP

### Auteur-e-s

Daniel Wechsler, Nicolas Fehér, John Haldemann, Marco Meola, Dominik Guggisberg, Pascal Fuchsmann, Barbara Guggenbühl, Matthias Dreier, Noam Shani, Badertscher René, Charlotte Egger, Reto Portmann, Emmanuelle Arias, Remo Schmidt

### Partenaire

Interprofession Raclette du Valais AOP



Schweizerische Eidgenossenschaft  
Confédération suisse  
Confederazione Svizzera  
Confederaziun svizra

Département fédéral de l'économie,  
de la formation et de la recherche DEFR  
**Agroscope**

## Impression

Editeur	Agroscope Schwarzenburgstrasse 161 3003 Berne <a href="http://www.agroscope.ch">www.agroscope.ch</a>
Information	<a href="mailto:daniel.wechsler@agroscope.admin.ch">Daniel Wechsler, daniel.wechsler@agroscope.admin.ch</a>
Editorial	Daniel Wechsler
Design	Daniel Wechsler, Petra Asare
Couverture	Raclette du Valais AOP
Copyright	© Agroscope 2021
ISSN	2296-729X
DOI	<a href="https://doi.org/10.34776/as115g">https://doi.org/10.34776/as115g</a>

Les informations contenues dans cette publication sont destinées uniquement à l'information des lectrices et lecteurs. Agroscope s'efforce de fournir des informations correctes, actuelles et complètes, mais décline toute responsabilité à cet égard. Nous déclinons toute responsabilité pour d'éventuels dommages en lien avec la mise en œuvre des informations contenues dans les publications. Les lois et dispositions légales en vigueur en Suisse s'appliquent aux lectrices et lecteurs; la jurisprudence actuelle est applicable.

# Table des matières

<b>Résumé</b> .....	<b>4</b>
<b>1 Propriétés du Raclette du Valais</b> .....	<b>4</b>
1.1 Fabrication du Raclette du Valais.....	5
<b>2 Informations sur le déroulement de l'étude</b> .....	<b>5</b>
2.1 Sélection des fromages.....	5
<b>3 Caractérisation chimique et biochimique</b> .....	<b>6</b>
3.1 Données méthodologiques.....	6
3.2 Composition du fromage .....	7
3.2.1 Comparaison de la composition du Raclette du Valais et du Raclette Suisse.....	8
3.3 Paramètres de fermentation.....	8
3.4 Paramètres d'affinage .....	9
3.4.1 Fractions d'azote .....	9
3.4.2 Acides aminés libres.....	10
3.4.3 Valeur pH.....	12
3.5 Amines biogènes.....	12
3.6 Acides carboxyliques volatils.....	13
3.7 Profil des acides gras .....	15
<b>4 Caractérisation physique</b> .....	<b>17</b>
4.1 Données méthodologiques.....	17
4.1.1 Explications des méthodes utilisées.....	17
4.2 Propriétés de la pâte et de fonte .....	18
<b>5 Profil aromatique</b> .....	<b>20</b>
5.1 Données méthodologiques.....	20
5.2 Profil aromatique du Raclette du Valais .....	23
<b>6 Caractérisation sensorielle</b> .....	<b>24</b>
6.1 Données méthodologiques.....	24
6.1.1 Caractérisation sensorielle du fromage froid.....	24
6.1.2 Caractérisation sensorielle du fromage fondu.....	25
6.2 Caractéristiques sensorielles du Raclette du Valais .....	25
<b>7 Caractérisation microbiologique</b> .....	<b>27</b>
7.1 Analyse du microbiome .....	27
7.1.1 Extraction de l'ADN .....	27
7.1.2 Amplification par PCR et séquençage.....	27
7.1.3 Traitement bio-informatique des résultats.....	27
7.2 Composition du microbiome du Raclette du Valais AOP .....	28
7.2.1 Le microbiome dans la pâte à fromage .....	28
7.2.2 Microbiome de la croûte .....	33
7.2.3 Différences spécifiques à l'exploitation dans le microbiome de la pâte et de la croûte .....	34
<b>8 Bibliographie</b> .....	<b>37</b>

## Résumé

Le Raclette du Valais AOP est un fromage traditionnel à pâte mi-dure fabriqué à partir de lait cru. Depuis 2007, il est au bénéfice d'une appellation d'origine protégée (AOP). Pour procéder à sa caractérisation, une meule entière de fromage a été achetée dans 21 fromageries. Dans le cadre des analyses chimiques et biochimiques, la composition, divers paramètres de fermentation et d'affinage, les amines biogènes, les acides carboxyliques volatils et le profil des acides gras ont été déterminés. La caractérisation physique a été effectuée en déterminant les propriétés de la pâte et de la fonte. En outre, le profil aromatique ainsi que les propriétés sensorielles des fromages à l'état froid et fondu ont été déterminés. Grâce aux progrès réalisés en matière de méthodes d'analyse au cours de ces dernières années, il a également été possible pour la première fois de caractériser de manière exhaustive le microbiome du Raclette du Valais AOP, en analysant à la fois le microbiome de la pâte et celui de la croûte. Le présent Agroscope Science contient un grand nombre de valeurs de référence spécifiques à cette sorte de fromage et constitue donc également une base précieuse pour les conseillers en fromagerie.

## 1 Propriétés du Raclette du Valais

Le Raclette du Valais AOP est un fromage gras à pâte mi-dure et à croûte emmorgée, fabriqué à base de lait cru et consommé principalement fondu. Depuis 2007, ce fromage est au bénéfice d'une appellation d'origine protégée (AOP). La majeure partie de la production annuelle d'environ 2300 tonnes est produite dans une vingtaine de fromageries artisanales, qui couvrent la demande surtout en hiver lorsque celle-ci est élevée. Pendant la saison d'estivage, le Raclette du Valais AOP est également produit dans plus de 100 exploitations d'alpage. Une partie de la production est consommée à froid sous la forme de fromage à pâte mi-dure en tranches et une autre partie est affinée à sec pendant une période d'au moins 9 mois en fromage à rebibes à pâte extra-dure. Le Raclette du Valais en tranches et le Raclette du Valais à rebibes sont deux variantes du Raclette du Valais AOP, qui ne sont pas abordées dans cette caractérisation. Le Raclette du Valais est vendu et consommé principalement dans sa région d'origine, les quantités exportées sont modestes. La première trace écrite en Valais concernant la pratique de la fonte du fromage devant un feu date de 1574 et est due au médecin et pharmacien Gaspard Ambuel de Sion. Le nom de raclette (du français racler) a été utilisé à partir de 1874. En 1909, à l'occasion de l'Exposition cantonale valaisanne de Sion, la raclette se fait connaître au-delà des frontières cantonales. Jusqu'en 1920 environ, le fromage à raclette était produit exclusivement sur les alpages.

L'avènement du tourisme et l'apparition des fours à raclette électriques a contribué à faire connaître la raclette dans toute la Suisse et même à l'étranger ainsi qu'à développer la production de fromage à raclette en dehors du canton du Valais. L'Association Raclette Suisse réunit les producteurs de la marque Raclette Suisse. Contrairement au Raclette du Valais, le Raclette Suisse est fabriqué principalement dans des fromageries industrielles à partir de lait pasteurisé. En outre, les meules de Raclette Suisse sont généralement de forme rectangulaire. La quantité de fromage à raclette vendue sous la marque Raclette Suisse est plusieurs fois supérieure à celle du Raclette du Valais AOP, soit environ 15 000 tonnes.

Le cahier des charges du Raclette du Valais AOP contient des exigences contraignantes relatives à l'apparence, à la composition, aux propriétés organoleptiques et la fabrication. Les meules de Raclette du Valais AOP sont rondes, ont un diamètre de 29 à 32 cm et une hauteur de 6 à 7 cm. Sur le talon de chaque meule est inscrite l'origine du fromage, soit en relief, soit incrustée dans la croûte. Le fromage a une couleur brun-orange uniforme et naturelle et une croûte emmorgée légèrement humide. Les quelques trous (2 à 3 trous par sondes) sont de la taille d'un petit pois et répartis de façon homogène. La teneur en eau du fromage dégraissé (tefd) est de l'ordre de 600 à 640 g/kg pour le Raclette du Valais. La teneur en matière grasse dans la matière sèche (MG/ES) est de l'ordre de 500 à 549 g/kg et la teneur en sel de l'ordre de 1,2 à 2,2 g/kg. Le Raclette du Valais a une pâte lisse, souple et onctueuse. Son odeur est fraîche et lactée (beurre frais, crème fraîche) et florale. Son goût, également frais et lacté, est soutenu par une note acide et présente une note dominante végétale et fruitée.

## 1.1 Fabrication du Raclette du Valais

Seul le lait cru issu d'une production laitière sans ensilage peut être utilisé pour la fabrication du Raclette du Valais. Lors de l'alimentation des vaches laitières, 75% de la matière sèche doit être constituée de fourrage provenant de l'aire géographique de production. Après la traite, le lait est refroidi à moins de 8°C dans les 2 heures et livré une ou deux fois par jour à la fromagerie. Le lait le plus âgé ne doit pas avoir plus de 24 heures au moment de l'emprésurage. L'eau, le sel, la présure issue de la caillette de veau, les cultures de bactéries lactiques et les cultures d'emmorgement sont les seuls ingrédients et additifs autorisés. Le lait doit être transformé dans une cuve en cuivre. La quantité maximale de lait de fabrication est de 5'000 litres par lot. Après l'ajout des cultures acidifiantes, le lait est chauffé à 32°C et pré-maturé pendant 30 à 60 minutes. La présure est ajoutée à une température comprise entre 30°C et 33°C. Le caillé est coupé en gros grains. Le lactose est dilué en ajoutant de l'eau correspondant à 10-15% de la quantité de lait de fabrication. Le mélange caillé / petit-lait est brassé pendant 30 minutes à une température comprise entre 36 et 45°C. Le caillé est pré-pressé et mis dans des moules ronds. Les meules de fromage sont retournées au moins deux fois pendant le pressage et l'égouttage (durée:  $\geq 4$  heures). A la fin de l'égouttage, le pH du fromage doit être compris entre 4,8 et 5,2. Le salage est effectué soit à la main, soit dans une saumure (18° - 22° Bé, 8° - 15° C, 22 - 24h).

Les fromages sont affinés pendant au moins trois mois à une température comprise entre 7 et 14°C et à une humidité relative située entre 88 et 96% sur des planchettes de sapin rouge brutes. La formation de la croûte est provoquée par le frottement des fromages avec la flore de croûte naturellement présente dans la fromagerie (*Brevibacterium linens*). Les fromages sont retournés régulièrement (tous les jours du premier au 10<sup>e</sup> jour; 3 fois par semaine du 11<sup>e</sup> au 30<sup>e</sup> jour; puis 2 fois par semaine).

## 2 Informations sur le déroulement de l'étude

### 2.1 Sélection des fromages

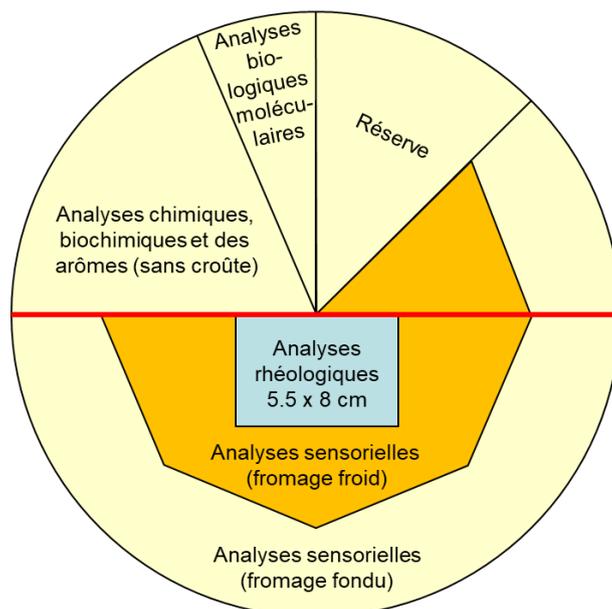
Pour cette caractérisation, une meule entière de fromage a été achetée dans 21 fromageries (**tableau 1**). Vu que la proportion de Raclette du Valais fabriqués dans des exploitations d'alpage dans le volume de production annuel est plutôt faible et que la plus grande partie de la production annuelle est écoulée en hiver, seuls des fromages fabriqués dans des fromageries de plaine ont été pris en compte dans la présente caractérisation. La date de fabrication a été fixée au 29.11.17, date qui a été respectée par 20 des 21 fromageries. Grâce à cette spécification, il a été possible d'éviter les différences liées à l'âge entre les fromages des différentes fromageries. Les fromages ont été affinés dans les fromageries, collectés à 120 jours et transférés dans la cave d'affinage de la fromagerie expérimentale d'Agroscope à Liebefeld.

A leur arrivée, les meules ont été découpées pour les différentes analyses selon le schéma présenté dans **figure 1** et une image en coupe transversale de chaque meule a été établie. La croûte du morceau de fromage destiné à la détermination du profil aromatique et des paramètres chimiques et biochimiques a été enlevée. Ensuite, le morceau de fromage a été coupé en petits cubes, congelé à l'azote liquide dans un homogénéisateur avec insert de coupe et pulvérisé. La poudre de fromage homogénéisée a été répartie dans des sachets en plastique à l'état congelé, mise sous vide et envoyée aux laboratoires participants pour y être analysée. Les échantillons ont été stockés à -20°C jusqu'à ce que les analyses soient effectuées.

Pour les analyses biologiques moléculaires, 10 g d'échantillon ont été prélevés de manière stérile sur les échantillons de fromage frais pour l'extraction de l'ADN / ARN. Pour effectuer les analyses rhéologiques, un échantillon a été prélevé au centre (5,5 x 8 cm) d'une demi-meule. Pour les analyses sensorielles (à froid et à chaud), les morceaux de fromage ont été emballés dans des sachets en plastique et stockés temporairement pendant une courte période. Un échantillon de réserve de chaque fromage a été congelé à -20°C.

**Tableau 1:** Informations sur la provenance et l'âge du Raclette du Valais AOP analysé

N° d'autorisation	Nom	Fromagerie	Date de production	Âge
61769547	Anniviers	Anniviers à Vissoie	29.11.2017	120
84964150	Ayent	Ayent-Arbaz-Grimisuat	29.11.2017	120
40607242	Bagnes 1	Verbier	29.11.2017	120
65197703	Bagnes 4	Liddes	29.11.2017	120
64175127	Bagnes 5	Orsières / Somlaproz	29.11.2017	120
64510087	Bagnes 25	Champsec-Bruson	29.11.2017	120
64019062	Bagnes 30	Lourtier	29.11.2017	120
65407261	Bagnes 98	Etièz à Vollèges	29.11.2017	120
66102074	Dixence	Hérémece	29.11.2017	120
40633195	Gomser 1	Aletsch-Goms, Bitsch	29.11.2017	120
66147583	Gomser 11 bio	Gluringen	29.11.2017	120
65462283	Gomser 15	Obergesteln	29.11.2017	120
-	Gomser 32	Reckingen	29.11.2017	120
62062971	Gomser 55	Grengiols	29.11.2017	120
63411197	Hauderes	Haudères	29.11.2017	120
46810117	Heida	Visperterminen	29.11.2017	120
63805522	Iserables	Isérables	10.12.2017	109
61769547	Nendaz	Haute-Nendaz	29.11.2017	120
84964150	Savièse	Savièse	29.11.2017	120
40607242	Simplon	Village de Simplon	29.11.2017	120
65197703	Wallis 65	Turtmann	29.11.2017	120

**Figure 1:** Schéma de découpe des meules de fromage

### 3 Caractérisation chimique et biochimique

#### 3.1 Données méthodologiques

La teneur en eau des fromages a été déterminée selon la méthode IDF (IDF, 2004). Quant à la détermination de la matière grasse, elle a été effectuée par butyrométrie selon Gerber van Gulik (ISO, 1975). La teneur en eau dans le

fromage dégraissé (Tefd) et la teneur en matière grasse de l'extrait sec (MG/ES) ont été calculées selon la description du Manuel suisse des denrées alimentaires. La teneur en azote (TN) a été déterminée selon la méthode Kjeldahl (ISO, 2007a) et la teneur en protéines totales a été calculée à partir de la teneur en azote selon Kjeldahl ( $TN \times 6,38$ ). Quant à l'azote non protéique, il a été déterminé à partir de la fraction azotée soluble dans l'acide trichloracétique (120 g TCA/kg) (Collomb *et al.*, 1990). L'azote soluble à pH 4,6 (LN 4,6) a été déterminé selon la méthode de Collomb *et al.* (1990). La teneur en sel a été déterminée indirectement par titrage argentométrique du chlorure (IDF, 2006) et le calcium ainsi que le cuivre ont été déterminés par spectrométrie d'absorption atomique de flamme (ISO, 2007b). Les acides carboxyliques volatils (C1 - C6) ont été quantifiés après estérification des acides carboxyliques avec de l'éthanol au moyen de la GC-FID et de l'«Headspace-Technology» comme décrit par Fröhlich-Wyder *et al.* (2013). Comme mesure de la teneur en acides aminés libres des fromages, la valeur OPA a été déterminée selon la méthode d' Egger *et al.* (2021). La détermination des acides aminés libres par HPLC et la détection par fluorescence a été réalisée selon la méthode décrite par Wenzel *et al.* (2018). La détermination du profil des acides gras a été effectuée par la détermination des esters méthyliques par GC-FID selon la méthode ISO (ISO, 2002a et ISO, 2002b). Les amines biogènes ont été déterminées à l'aide d'un système UPLC (UltiMate 3000 RS ; Thermo Fisher Scientific, Reinach, Suisse) comme décrit par Ascone *et al.* (2017). Les teneurs en acide lactique D et L et en acide citrique ont été déterminées par voie enzymatique selon les instructions du fabricant du kit (Boehringer, Mannheim, Allemagne) à l'aide d'un spectrophotomètre automatisé (Gallery, Thermo, Suisse).

### 3.2 Composition du fromage

Les données sur la composition des 21 fromages analysés figurent dans le **tableau 2**. Les écarts les plus fréquents par rapport au cahier des charges ont été constatés au niveau de la teneur en eau du fromage dégraissé (Tefd; norme 600 - 640 g/kg). Sept des fromages analysés avaient une teneur située entre 574 et 597 g/kg, un fromage était au-dessus de la valeur spécifiée avec 646 g/kg. En ce qui concerne la teneur en matière grasse de l'extrait sec (MG/ES), quatre des fromages analysés présentaient des valeurs supérieures aux spécifications du cahier des charges (500 - 549 g/kg) avec des valeurs allant de 552 - 564. La teneur en sel de 1,2 - 2,2% indiquée dans le cahier des charges a été dépassée dans un fromage (2,43%). Huit fromages, remplissant entièrement les exigences du cahier des charges, présentaient les teneurs moyennes suivantes: eau  $432 \pm 16$  g/kg, protéines totales  $232,3 \pm 7,4$  g/kg, matière grasse  $302 \pm 13$  g/kg, MG/ES  $531 \pm 14$  g/kg, Tefd  $619 \pm 14$  g/kg, sel dans l'eau  $531 \pm 14$  g, teneur en sel  $19,6 \pm 1,2$  g/kg.

La teneur moyenne en sel de 19,7 g/kg se situait dans le haut de la fourchette de 1,2 à 2,2% spécifiée dans le cahier des charges. Ce n'est pas surprenant, car le sel remplit diverses fonctions dans le fromage. Il est très important pour la formation du goût du fromage. Il contribue non seulement au goût salé, mais il est également d'une grande importance pour une impression générale harmonieuse de la saveur du fromage. Les fromages à faible teneur en sel sont souvent perçus comme «impurs», car les attributs gustatifs tels que l'amertume ou le goût métallique sont davantage perçus lorsque la teneur en sel est faible. La teneur en sel dans la phase aqueuse a une influence considérable sur la croissance de la flore d'affinage. Dans le cas de la valeur moyenne de 4,7% déterminée, la croissance des bactéries propioniques sensibles au sel est par exemple significativement inhibée.

Le sel a également la fonction d'un échangeur d'ions. L'échange des ions calcium dans la structure de la caséine par des ions sodium a un effet positif sur les propriétés de fonte. De faibles teneurs en calcium sont associées à de bonnes propriétés de fonte. La teneur en calcium des fromages prêts à la consommation dépend de différents facteurs (par exemple, le délactosage, le processus d'acidification, la synérèse pendant le pressage, la dégradation de l'acide lactique par la flore d'emmorgement), c'est pourquoi, il est difficile d'influencer directement ce paramètre. Pour la fabrication du Raclette du Valais, le lait doit être transformé dans une cuve en cuivre conformément au cahier des charges. La teneur en cuivre des 21 fromages analysés était très variable (minimum 1,3 mg/kg, maximum 13 mg/kg).

À titre de comparaison, les teneurs en cuivre de certaines autres sortes de fromage, également fabriquées dans des cuves en cuivre, sont indiquées ci-après. Dans l'Etivaz, une teneur moyenne en cuivre de  $9,8 \pm 3,3$  mg/kg a été déterminée; dans le fromage d'alpage bernois, les teneurs étaient comprises entre 11,9 et 19,0 mg/kg (moyenne de

15,3 mg/kg); dans l'Appenzeller, elles s'élevaient à  $13,3 \pm 4,4$  mg/kg et dans un essai pratique avec 6 fromageries d'Emmentaler, de grandes différences ont été observées en fonction du lot (en moyenne 6,9 mg/kg dans le lot 1 et 2,6 mg/kg dans le lot 2). La teneur en cuivre du fromage est influencée par différents facteurs tels que la taille de la cuve en cuivre (rapport surface/volume), la durée de séjour du lait dans la cuve en cuivre, le nettoyage de la cuve en cuivre, etc. La concentration de cuivre dans le fromage influence également la croissance de la flore d'affinage dans le fromage. Il est généralement admis que la fabrication de fromages dans une cuve en cuivre a un effet positif sur la qualité des fromages, car le cuivre a un effet inhibiteur sur la croissance des bactéries indésirables telles que les bactéries propioniques ou *Clostridium tyrobutyricum*.

**Tableau 2:** Composition du Raclette du Valais AOP à 120 jours (n = 21)

Paramètre	Unité	Médiane	Valeur moyenne	s <sub>x</sub>	Min.	Max.
Eau	g/kg	414	415	21	377	457
Matière grasse	g/kg	317	315	16	276	344
Protéines totales	g/kg	234,9	233,3	8,3	213,9	246,0
Tefd	g/kg	608	606	19	574	646
MG/ES	g/kg	539	540	14	508	564
Sel (NaCl)	g/kg	19,6	19,7	1,8	16,4	24,3
NaCl dans l'eau	%	4,7	4,7	0,4	4,0	5,8
Calcium	g/kg	4,9	4,9	0,4	4,2	6,0
Cuivre	mg/kg	6,3	6,8	3,1	1,3	13,0

Abréviations : Tefd = teneur en eau du fromage dégraissé; MG/ES = matière grasse de l'extrait sec, s<sub>x</sub> = écart-type.

### 3.2.1 Comparaison de la composition du Raclette du Valais et du Raclette Suisse

Le **tableau 3** contient les résultats d'analyse de 33 fromages Raclette Suisse qui ont été examinés dans le cadre d'une étude de qualité au printemps 2018. La comparaison entre le Raclette du Valais et le Raclette Suisse montre que la teneur en eau des deux sortes de fromage est très similaire. Cependant, en ce qui concerne la composition de la matière sèche, les deux sortes de fromage diffèrent considérablement. La teneur moyenne en matière grasse du Raclette du Valais ( $315 \pm 16$  g/kg) est sensiblement plus élevée que celle du Raclette Suisse ( $288 \pm 17$  g/kg). Ainsi, le Raclette du Valais a un MG/ES significativement plus élevée que le Raclette Suisse ( $540 \pm 14$  g/kg contre  $488 \pm 19$  g/kg). En raison de la plus faible teneur en protéines, le Raclette du Valais a une Tefd plus élevée que le Raclette Suisse ( $606 \pm 19$  g/kg contre  $574 \pm 25$  g/kg). La plus faible teneur en protéines du Raclette du Valais est également la principale raison de la plus faible teneur en calcium ( $4,9 \pm 0,4$  g/kg contre  $5,7 \pm 0,6$  g/kg). La teneur en sel du Raclette du Valais ( $19,7 \pm 1,8$  g/kg) est inférieure à celle du Raclette Suisse (21,9 g/kg). Cette différence s'explique par le fait qu'une teneur maximale en sel de 22 g/kg est définie dans le cahier des charges du Raclette du Valais.

**Tableau 3:** Valeurs indicatives pour la composition du Raclette Suisse (n = 33)

Paramètre	Unité	Médiane	Valeur moyenne	s <sub>x</sub>	Min.	Max.
Eau	g/kg	411	409	24	361	461
Matière grasse	g/kg	286	288	17	258	335
Tefd	g/kg	576	574	25	532	648
MG/ES	g/kg	483	488	19	467	554
NaCl	g/kg	22,4	21,9	3,6	14,7	30,4
NaCl dans l'eau	%	5,5	5,4	1,0	3,6	8,4
Calcium	g/kg	5,7	5,7	0,6	3,7	6,4

### 3.3 Paramètres de fermentation

Après la fermentation lactique, la teneur totale en acide lactique du fromage à pâte mi-dure est de l'ordre de 130 à 150 mmol/kg, en fonction de la teneur en eau et de l'ajout d'eau de délactosage. La teneur en acide lactique diminue

continuellement au cours de l'affinage, car l'acide lactique présent dans le fromage est décomposé par la flore d'emorgement. Dans les fromages avec une fermentation défectueuse, l'acide lactique est également dégradé par la flore contaminante (fermentation propionique, fermentation butyrique). Les 21 Raclettes du Valais analysés présentaient une teneur moyenne en acide lactique de 80 mmol/kg à 120 jours (**tableau 4**). Les valeurs de l'Appenzeller, qui selon le degré d'affinage de 3, 4 et 6 mois présente une teneur en acide lactique de respectivement  $85,9 \pm 12,0$  mmol/kg,  $74,6 \pm 8,6$  mmol/kg et  $61,6 \pm 9,5$  mmol/kg, ont servi pour la comparaison (Fröhlich, 2003). La teneur en acide lactique légèrement inférieure dans l'Appenzeller à 120 jours peut s'expliquer par la teneur en eau plus faible ( $373,2 \pm 11,9$  g/kg) de cette sorte.

Le citrate est présent naturellement dans le lait à une concentration d'environ 2 g/kg (10,4 mmol/kg). La teneur en citrate du fromage à 24 heures est généralement de l'ordre de 6 à 8 mmol/kg. Des souches de différentes espèces de bactéries telles que *Lactobacillus (para)casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc lactis* et *Leuconostoc mesenteroides* peuvent utiliser ou fermenter le citrate comme source de glucides. D'une part, le métabolisme du citrate contribue à la formation de l'arôme du fromage (formation de diacétyle, d'acide acétique), mais entraîne également la libération de CO<sub>2</sub>. L'utilisation de cultures dégradant le citrate permet d'influencer de manière ciblée la formation de l'ouverture et de l'arôme dans des fromages tels que le Raclette du Valais. Dans les 21 fromages analysés, la teneur en citrate variait entre 0,0 et 6,1 mmol/kg (valeur moyenne 2,2 mmol/kg). Cette large fourchette indique que dans certains des fromages, on a utilisé des cultures qui ne sont pas capables de métaboliser le citrate.

**Tableau 4:** Paramètres de fermentation du Raclette du Valais AOP à 120 jours

Paramètre	Unité	Médiane	Valeur moyenne	S <sub>x</sub>	Min.	Max.
Acide lactique total	mmol/kg	79	80	14	56	106
Acide lactique L+	mmol/kg	48	49	10	30	68
Acide lactique D-	mmol/kg	29	31	11	12	53
Proportion de L-lactate provenant de l'acide lactique total	%	60,4	61,4	10,0	50,5	80,1
Acide citrique	mmol/kg	1,9	2,2	1,9	0,0	6,1

### 3.4 Paramètres d'affinage

Le développement du goût et de l'arôme ainsi que des propriétés de la pâte sont influencés de manière significative par la dégradation de la caséine. Grâce à l'action des protéases du lait, de la présure, des cultures starter, des cultures de surface et des bactéries lactiques non starters (NSLAB), la caséine est décomposée dans une première étape en polypeptides et oligopeptides. Par la protéolyse en largeur, certaines parties de la caséine deviennent hydrosolubles. Dans la protéolyse en profondeur qui suit, les produits de dégradation de la protéolyse primaire sont dégradés en tri et en dipeptides ainsi qu'en acides aminés libres par l'activité de diverses peptidases. Les acides aminés libres exercent, avec leurs propriétés de formation et de renforcement de l'arôme, une influence importante sur la perception sensorielle du fromage.

#### 3.4.1 Fractions d'azote

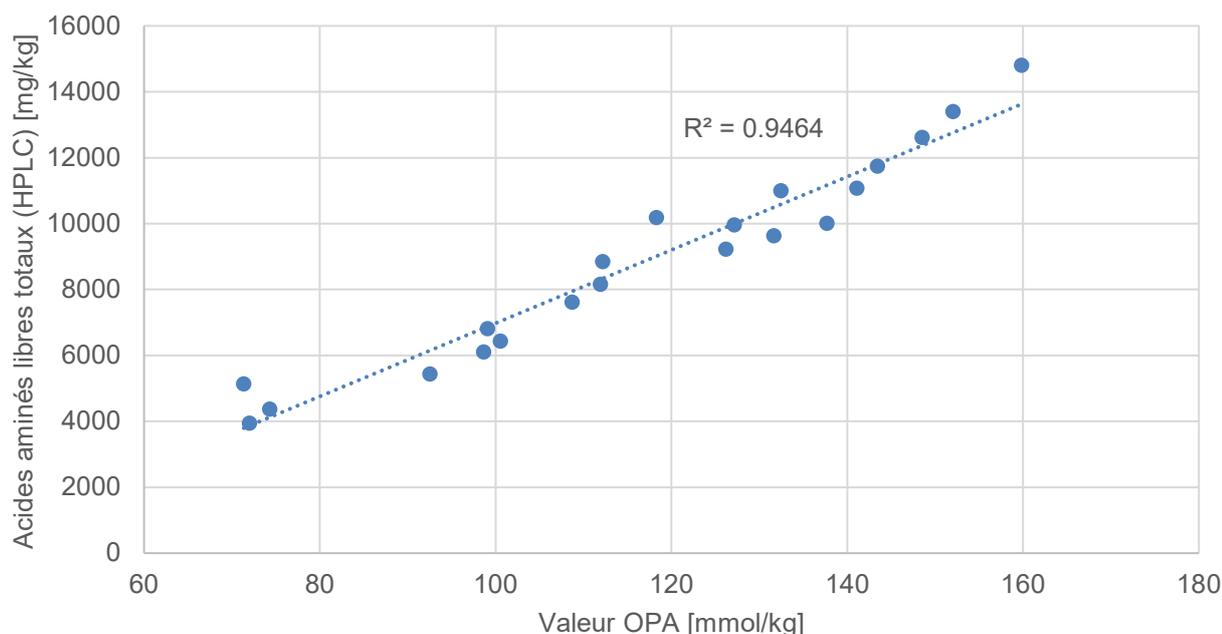
La dégradation enzymatique de la caséine au cours de l'affinage du fromage se manifeste par l'augmentation de la proportion d'azote hydrosoluble (LN 4,6) et de l'azote non protéique. Dans les 21 Raclettes du Valais analysés, la proportion d'azote non protéique à l'azote total après une période d'affinage de 120 jours était en moyenne de 13,4%, alors que la proportion moyenne de l'azote soluble à un pH de 4,6 était de 18,6% (**tableau 5**). De grandes différences dans le degré d'affinage ont été constatées entre les fromages des 21 fromageries alors qu'ils avaient le même âge, ce qui peut probablement être attribué à des différences dans les conditions d'affinage qui sont propres à chaque fromagerie. Dans des études antérieures sur le processus d'affinage du Raclette du Valais, de l'Appenzeller et du Tilsiter affinés pendant 130 jours, une proportion en NPN de respectivement 16,54%, 20,07% et 20,69% à l'azote total a été enregistrée. La valeur moyenne obtenue de 13,4% indique que le degré d'affinage moyen des fromages examinés dans la présente étude était légèrement inférieur.

**Tableau 5:** Paramètres d'affinage du Raclette du Valais AOP à 120 jours

Paramètre	Unité	Médiane	Valeur moyenne	s <sub>x</sub>	Min.	Max.
Azote total (TN)	g/kg	36,82	36,57	1,30	33,53	38,56
Azote non protéique (NPN)	g/kg	4,9	4,9	0,6	3,3	5,7
NPN / TN	%	13,3	13,4	1,9	8,7	16,0
Azote soluble à un pH de 4,6 (LN 4,6)	g/kg	6,9	6,8	0,6	5,1	8,2
LN / TN	%	18,6	18,6	2,0	13,4	23,1
Acides aminés libres (OPA)	mmol/kg	118	117	26	71	160
Acides aminés libres (HPLC)	mg/kg	9222	8882	3020	3949	14808
Valeur pH	[-]	5,51	5,50	0,11	5,33	5,78

### 3.4.2 Acides aminés libres

La détermination de la teneur en acides aminés libres fournit des informations sur l'ampleur de la protéolyse en profondeur. Pour des raisons de coûts, seule la valeur OPA est généralement mesurée pour la détermination de la protéolyse en profondeur. Dans cette analyse, les groupes aminés libres des peptides et des acides aminés sont déterminés quantitativement. En revanche, la détermination quantitative des différents acides aminés libres est effectuée par chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Comme on peut le voir sur la **figure 2**, la valeur OPA corrèle très bien avec la teneur en acides aminés libres.



**Figure 2:** Corrélation entre la valeur OPA et la somme des acides aminés libres (HPLC) dans le Raclette du Valais.

Dans les fromages à pâte dure affinés, tels que le Gruyère, le Sbrinz ou L'Etivaz, la teneur en acides aminés libres est généralement de l'ordre de 40 g/kg environ. En revanche, les fromages à pâte mi-dure présentent des teneurs en acides aminés libres nettement inférieures. Des études sur le processus d'affinage du Raclette du Valais, de l'Appenzeller et du Tilsiter ont montré que la teneur en acides aminés libres augmente fortement entre 60 et 130 jours d'affinage. A 60 jours, ces sortes présentaient des teneurs en acides aminés libres allant de 10,03 à 13,35 g/kg, tandis qu'à 130 jours, les valeurs étaient comprises entre 21,87 et 26,83 g/kg (Lavanchy et Sieber, 1993). La teneur en acides aminés libres du fromage est influencée par différents facteurs. Le type de protéases et de peptidases présentes dans le fromage dépend de la composition de la flore fromagère (starter, NSLAB, flore contaminante), l'activité des enzymes est fortement influencée par les conditions du milieu (courbe pH, température, teneur en eau). La teneur en acides aminés libres des fromages de différents fabricants varie donc considérablement. Les 21 Raclettes du Valais analysés avaient une teneur moyenne en acides aminés libres de 8,88 g/kg à 120 jours (minimum 3,95 g/kg, maximum 14,81 g/kg). La teneur trouvée dans le Raclette du Valais est environ deux fois moins élevée

que les valeurs rapportées par Lavanchy et Sieber pour des fromages à pâte mi-dure affinés pendant 130 jours. La méthode HPLC utilisée dans cette étude n'a pas permis de détecter les deux acides aminés proline et cystéine. L'absence de ces deux acides aminés et la période d'affinage plus courte de 10 jours n'expliquent que partiellement la grande différence par rapport aux études précédentes. Les modifications apportées dans les conditions d'affinage (climat de cave contrôlé, températures d'affinage plus basses), la meilleure qualité du lait cru (voir aussi le chapitre sur les amines biogènes) et les adaptations dans la sélection des cultures starter (utilisation de cultures mésophiles, abandon de la CM 401) sont des facteurs importants qui expliquent la protéolyse dans la profondeur plus faible ou plus lente dans la fabrication actuelle du Raclette du Valais.

La teneur des différents acides aminés libres dans le fromage dépend de l'activité et de la spécificité des enzymes impliquées. En outre, certains acides aminés libres tels que l'asparagine et l'arginine sont préférentiellement métabolisés par certaines espèces de la flore d'affinage (métabolisme de l'aspartate des bactéries propioniques, métabolisme de l'arginine-déiminase), tandis que la plupart des autres acides aminés sont accumulés. Par conséquent, la composition en acides aminés libres du fromage ne correspond qu'approximativement à la composition en acides aminés de la caséine. Dans les fromages étudiés, l'acide glutamique (valeur moyenne 1807 mg/kg), la leucine (1500 mg/kg), la phénylalanine (1006 mg/kg) et la lysine (691 mg/kg) représentaient les acides aminés libres dominants (**tableau 6**).

Le spectre des acides aminés libres mesurés contient quatre acides aminés non protéinogènes: l'acide  $\alpha$ -aminobutyrique (AABA), l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA), la citrulline et l'ornithine. L'acide alpha-aminobutyrique est formé par transamination de l'oxobutyrate, un métabolite de la biosynthèse de l'isoleucine. Le GABA est formé par décarboxylation à partir de l'acide glutamique, tandis que la citrulline et l'ornithine proviennent du métabolisme de l'arginine-déiminase (ADI). Lors de la formation du GABA et de l'ornithine, du CO<sub>2</sub> est libéré, c'est pourquoi leur concentration est importante pour la formation des trous et la stabilité du fromage lors du stockage.

**Tableau 6:** Teneurs en acides aminés libres (sans proline ni cystine) du Raclette du Valais AOP à 120 jours (en mg/kg)

Acide aminé	Médiane	Valeur moyenne	s <sub>x</sub>	Min.	Max.
Alanine	190	169	57	86	273
acide alpha-aminobutyrique	12	12	5	4	22
Arginine	42	48	19	28	107
Asparagine	609	551	193	239	826
Acide aspartique	206	213	84	64	409
Citrulline	201	222	140	52	602
acide gamma-aminobutyrique	100	182	224	21	854
Glutamine	244	251	129	71	486
Acide glutamique	1829	1807	812	346	3496
Glycine	143	155	66	41	279
Histidine	141	167	93	40	396
Isoleucine	291	305	148	71	674
Leucine	1561	1500	453	621	2218
Lysine	701	691	274	294	1300
Méthionine	220	218	86	89	395
Ornithine	388	371	121	199	589
Phénylalanine	1029	1006	234	627	1378
Phosphosérine	9	9	4	2	16
Sérine	30	59	58	13	211
Thréonine	159	165	85	23	348
Tryptophane	48	49	15	26	85
Tyrosine	196	200	120	36	413
Valine	573	531	200	179	923
Acides aminés libres totaux	9222	8882	3020	3949	14808

### 3.4.3 Valeur pH

Selon le cahier des charges, le Raclette du Valais doit avoir un pH compris entre 4,8 et 5,2 à la fin du processus de pressage. Au cours de l'affinage, la valeur pH du fromage augmente continuellement. Cela est dû d'une part à la dégradation continue de l'acide lactique par la flore d'affinage et à la désacidification du fromage qui en découle. D'autre part, la dégradation des acides aminés libres engendre des produits de dégradation alcalins tels que les amines biogènes et l'ammoniac, ce qui contribue également à l'augmentation du pH au cours de l'affinage. Le pH moyen des 21 Raclettes du Valais analysés était de  $5,50 \pm 0,11$  (minimum 5,33, maximum 5,78) après 120 jours. En comparaison, la valeur pH de l'Appenzeller affiné pendant 4 mois s'élevait à  $5,91 \pm 0,09$ .

## 3.5 Amines biogènes

Le terme amines biogènes (AB) couvre un groupe d'environ 20 à 30 composés d'origine biologique qui sont formés dans les tissus des humains, des animaux et des plantes, mais qui peuvent également être présents dans divers aliments contenant des protéines. Certaines de ces amines sont impliquées dans des fonctions biologiques et déclenchent en partie des réactions physiologiques. Dans le fromage, les amines biogènes sont formées par la dégradation microbienne des acides aminés, composants de la caséine. Les amines biogènes ingérées avec les aliments ne posent normalement aucun problème, car elles sont déjà dégradées dans la muqueuse de l'intestin grêle par des enzymes appropriées (monoamine oxydase, diamine oxydase). Il ne faut s'attendre donc à des effets négatifs que dans des situations particulières: apport très élevé par le biais de l'alimentation, hypersensibilité individuelle ainsi que prise de médicaments qui ralentissent la dégradation des amines. L'histamine, la tyramine, la cadavérine et la putrescine sont généralement détectables dans le fromage au lait cru; d'autres amines biogènes telles que la  $\beta$ -phényléthylamine ou la spermidine ne sont généralement présentes qu'à l'état de traces. Parmi ces amines biogènes, l'histamine et la tyramine sont particulièrement importantes en termes de sécurité alimentaire. L'ingestion de plus de 50 mg d'histamine par repas peut entraîner des problèmes de santé (diarrhée, flatulences, éruptions cutanées, etc.) chez les personnes en bonne santé. Chez les personnes sensibles à l'histamine, des problèmes peuvent survenir même avec des apports plus faibles. La tyramine ne provoque des effets négatifs chez les individus en bonne santé qu'à une dose de 600 mg par repas. Si des médicaments inhibiteurs de la monoamine-oxydase sont pris en même temps, des crises d'hypertension peuvent survenir même avec une consommation plus faible de tyramine. On sait peu de choses sur les effets toxicologiques des autres amines biogènes. Les fromages au lait cru de bonne qualité sont pratiquement exempts d'amines biogènes (somme des AB < 100 mg/kg), même après un affinage prolongé. Les fromages qui présentent des défauts peuvent contenir de l'histamine ou de la tyramine à des concentrations allant jusqu'à 1000 - 1500 mg/kg et la somme des amines biogènes peut atteindre 2000 - 3000 mg/kg dans de rares cas exceptionnels. Lors de la formation des amines biogènes, il y a toujours du CO<sub>2</sub> qui est libéré. C'est pourquoi les fromages présentant des teneurs d'amines biogènes très élevées présentent souvent des becs et des lainures.

L'histamine irrite la muqueuse buccale et déclenche une sensation de brûlure et de picotement sur la langue et le palais à des concentrations supérieures à 200 mg/kg. Les fromages à forte teneur en histamine sont perçus comme désagréables par la plupart des consommateurs-trices qui évitent donc d'en manger. Lors de la consommation de raclette ou de fondue, des quantités de fromage d'environ 100 à 150 g sont généralement consommées. Dans le cas du fromage à raclette ou à fondue, la teneur en histamine doit être inférieure à 500 mg/kg, car on en consomme une plus grande quantité. La formation d'histamine dans le fromage est principalement due à la contamination du lait cru par *Lactobacillus parabuchneri*. Cette espèce se caractérise par une bonne tolérance à la chaleur et, à l'instar de *Propionibacterium freudenreichii* ou des entérocoques, elle peut coloniser les installations de traite et ainsi entraîner une contamination chronique du lait cru, avec pour conséquence une teneur en histamine plus élevée sur une longue période dans l'ensemble de la production d'une fromagerie. On sait peu de choses sur l'importance dans la pratique d'autres bactéries lactiques productrices d'histamine (par exemple *Lactobacillus coryniformis*). La formation de tyramine et de  $\beta$ -phényléthylamine dans le fromage est principalement associée à une contamination par des entérocoques (par exemple *E. faecium* et *E. faecalis*). La présence de cadavérine et de putrescine indique une contamination du lait transformé par des *enterobacteriaceae*.

Seules des teneurs modérées en AB ont été trouvées dans les 21 Raclettes du Valais analysés, avec une moyenne de 213 mg/kg (**tableau 7**). Il est réjouissant de constater qu'aucun des fromages analysés ne contenait d'histamine en quantité élevée. La tyramine était l'amine biogène la plus importante en termes de quantité, avec une moyenne de 133 mg/kg. Le fromage présentant la teneur en amines biogènes la plus élevée (426 mg/kg) contenait principalement de la tyramine (351 mg/kg). Les teneurs moyennes en cadaverine et en putrescine étaient inférieures à celles de la tyramine et de l'histamine, comme c'est typique pour les fromages au lait cru. La présente étude montre que les fromages au lait cru fabriqués à partir de lait irréprochable du point de vue de la qualité présentent de faibles niveaux d'amines biogènes. Les fromages à raclette prêts à la consommation étaient encore relativement jeunes à 4 mois. Les fromages prêts à la consommation qui présentent de faibles niveaux d'amines biogènes peuvent être affinés plus longtemps sans craindre une forte formation d'amines biogènes dans la suite de l'affinage. Par rapport à une étude antérieure (Schär *et al.* 1992), les fromages examinés dans la présente étude avaient des teneurs en amines biogènes nettement plus faibles. En 1992, la valeur médiane des amines biogènes dans le Raclette du Valais (6 meules) était de 478 mg/kg (quartile inférieur 191 mg/kg, quartile supérieur 942 mg/kg). Cette comparaison montre clairement que la qualité microbiologique du lait transformé s'est considérablement améliorée au fil du temps.

**Tableau 7:** Teneurs en amines biogènes dans le Raclette du Valais AOP à 120 jours (en mg/kg)

Amine biogène	Médiane	Valeur moyenne	s <sub>x</sub>	Min.	Max.
Cadaverine	10	20	20	3	79
Histamine	10	27	36	0	141
Putrescine	7	13	14	0	43
Spermidine	7	8	4	3	16
β-phényléthylamine	8	10	7	3	24
Tyramine	127	133	80	36	351
Amines biogènes totales	227	213	98	79	426

### 3.6 Acides carboxyliques volatils

Les acides carboxyliques volatils présents dans le fromage résultent de divers processus métaboliques, tels que la dégradation du lactose, de l'acide lactique, du citrate et des acides aminés ainsi que de la lipolyse de la graisse du lait. La somme des acides carboxyliques volatils augmente continuellement au cours de l'affinage.

La détermination des acides gras volatils au moyen de la chromatographie en phase gazeuse permet une détection fiable de divers défauts du fromage, tels que la dégradation indésirable de l'acide lactique en acide butyrique par *Clostridium tyrobutyricum* (fermentation butyrique) ou la dégradation de l'acide lactique en acide propionique par des bactéries propioniques (fermentation propionique). La libération d'acide caproïque est un indicateur fiable de la dégradation de la matière grasse du lait (lipolyse) par des lipases bactériennes ou par la lipase du lait, ce qui entraîne un arôme rance. La présence d'acides iso-carboxyliques indique un développement défectueux de la flore d'emmorgement provoquant une dégradation excessive des acides aminés libres dans la croûte. La formation d'acide iso-butyrique et d'acide iso-caproïque à partir de la valine et la formation d'acide iso-valérique à partir de la leucine sont des indicateurs typiques de la formation d'acides carboxyliques volatils par la flore d'emmorgement. L'expérience de la pratique montre qu'un développement défectueux de la flore d'emmorgement peut également conduire à la formation d'acide butyrique ou d'acide propionique (fermentation butyrique ou propionique atypique). Les acides carboxyliques volatils libérés dans la croûte des fromages migrent dans la pâte du fromage en fonction de leur solubilité. Cette migration est facilement reconnaissable sur la base des gradients zonaux (croûte, sous-croûte, centre).

Les teneurs en acides carboxyliques volatils déterminées dans les 21 Raclettes du Valais figurent dans le **tableau 8**. L'acide acétique était l'acide carboxylique le plus important dans le Raclette du Valais, avec une moyenne de 16,17 ± 5,36 mmol/kg. Dans les différents fromages, la teneur en acide acétique variait entre 6,56 et 26,11 mmol/kg. La principale raison de cette grande variation est l'utilisation de différentes cultures d'acidification, qui différaient en termes de capacité à dégrader le citrate. Dans 5 fromages dans lesquels plus aucun citrate n'a pu être détecté, une moyenne de 19,71 mol d'acide acétique par kg a été mesurée. 5 fromages avec des teneurs en citrate comprises

entre 4,1 et 6,1 ne contenaient en moyenne que 10,12 mmol d'acide acétique par kg, ce qui montre clairement la grande influence du métabolisme du citrate sur la formation d'acides carboxyliques volatils dans le Raclette du Valais. Outre l'acide acétique, de l'acide formique, du CO<sub>2</sub> et d'autres produits de dégradation (diacétyl, 2,3-butanediol, éthanol) sont également formés par le métabolisme du citrate. L'interprétation de teneurs élevées en acide acétique est souvent difficile, car outre le métabolisme du citrate, divers autres processus métaboliques conduisent à la formation d'acide acétique:

- La fermentation lactique hétérofermentaire (par exemple par *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. parabuchneri*, *L. plantarum*, *L. fermentum* et *Leuconostoc* spp.) entraîne, en plus de la formation du lactate, la formation d'acide acétique, d'acide formique, d'éthanol et de CO<sub>2</sub>.
- La fermentation d'acide mixte par *E. coli* et d'autres germes coliformes conduit à la formation d'acide acétique, d'acide formique et d'éthanol ainsi qu'à la libération de CO<sub>2</sub> et de H<sub>2</sub>.
- *Lactobacillus parabuchneri* et *Lactobacillus buchneri* sont capables, dans des conditions anaérobies, de dégrader le lactate en acide acétique, en 1,3-propanediol et en CO<sub>2</sub>.
- La croissance de pédiocoques (*P. pentosaceus*, *P. acidilactici*) dans le fromage entraîne des teneurs élevées en acide acétique, ce qui peut s'expliquer par la dégradation aérobie du lactate. L'acide acétique formé migre de la croûte vers l'intérieur du fromage.
- La formation d'acide acétique peut également résulter de la dégradation des acides aminés alanine, glycine et sérine.

Une teneur élevée en acide acétique est souvent un indicateur de la croissance d'une flore accompagnatrice indésirable, qui contribue à la formation de gaz et peut ainsi provoquer des défauts d'ouverture (ouverture impropre, gonflement précoce, becs et/ou lainures). En outre, des défauts de goût et d'arôme sont également possibles dans ces fromages (goût impur, arôme atypique).

En plus de l'acide acétique, on a également détecté de l'acide formique à des concentrations plus faibles (3,38 ± 1,08 mmol/kg). La présence de cet acide carboxylique dans des fromages qualitativement irréprochables peut s'expliquer par la dégradation du citrate et la présence de bactéries lactiques hétérofermentaires. Les autres acides carboxyliques (C3-C6) n'étaient présents qu'à des concentrations bien inférieures à < 1 mmol/kg. À ces concentrations, ces acides carboxyliques peuvent avoir une influence positive sur la saveur du fromage.

Un des fromages examinés présentait de légers signes de fermentation propionique (3,18 mmol/kg). Deux autres fromages contenaient des teneurs assez élevées d'acides iso-carboxyliques. Dans ces deux fromages, la teneur en acide butyrique était également élevée. On peut supposer qu'un développement défectueux de la flore d'emmorgement dans ces deux fromages a conduit à ces teneurs élevées en acides carboxyliques volatils.

**Tableau 8:** Teneur en acides carboxyliques volatils du Raclette du Valais AOP à 120 jours (en mmol/kg)

Acide carboxylique volatil	Médiane	Valeur moyenne	s <sub>x</sub>	Min.	Max.
Acides carboxyliques volatils totaux	20,48	21,15	6,39	10,08	32,39
Acide formique	3,16	3,38	1,08	1,35	5,32
Acide acétique	16,17	16,05	5,36	6,56	26,11
Acide propionique	0,06	0,30	0,72	0,00	3,18
Acide isobutyrique	0,09	0,25	0,43	0,03	1,87
Acide butyrique	0,44	0,60	0,62	0,20	3,10
Acide butyrique issu de la fermentation (calculé)	0,43	0,58	0,61	0,20	3,06
Acide iso-valérique	0,29	0,39	0,31	0,11	1,44
Acide iso-caproïque	0,00	0,18	0,52	0,00	2,06
Acide caproïque	0,00	0,01	0,01	0,00	0,05

### 3.7 Profil des acides gras

La matière grasse est le facteur qui varie le plus dans la composition du lait. Les acides gras contenus dans la graisse du lait diffèrent en termes de longueur et de saturation (acides gras saturés ou insaturés). La graisse du lait des vaches laitières se caractérise par des proportions molaires élevées d'acides butyrique et palmitique. La composition de la matière grasse est influencée aussi bien par l'alimentation que par la génétique et la flore du rumen des vaches laitières. La majorité des acides gras contenus dans la graisse du lait sont formés par la vache (synthèse de novo). Sous l'action des micro-organismes de la flore du rumen, les acides gras insaturés du fourrage sont en grande partie durcis (biohydrogénation), de sorte que seule une petite fraction des acides gras insaturés du fourrage passe dans le lait.

L'influence de l'alimentation sur le profil des acides gras de la graisse du lait est donc limitée. Néanmoins, des différences saisonnières dans la composition de la graisse du lait sont détectables. Pendant l'affouragement en vert, la graisse du lait contient des proportions un peu plus élevées d'acides gras insaturés que pendant la période hivernale avec l'affouragement de foin et de betteraves à sucre. C'est la raison pour laquelle, par exemple, la tartinabilité du beurre d'été est meilleure que celle du beurre d'hiver. Les pigments végétaux (caroténoïdes) contenus dans le fourrage contribuent également à la couleur nettement plus jaune du beurre d'été. Les différences saisonnières dans la composition de la matière grasse du lait influencent également les propriétés de la pâte. Les fromages issus de la production hivernale avec des proportions plus élevées d'acides gras saturés ont une pâte plus ferme et une couleur plus blanchâtre que les fromages fabriqués avec du lait d'été. Le rapport entre l'acide oléique (C18:1) et l'acide palmitique (C16) sert d'indicateur pour évaluer la dureté de la matière grasse du lait. Pour obtenir une pâte souple dans les fromages à pâte dure comme le Gruyère ou l'Emmentaler, un rapport de  $\geq 0,8$  est recommandé.

**Tableau 9:** Profil des acides gras du Raclette du Valais AOP issu de la production hivernale (en g/100g de matière grasse)

Acide gras	Abréviation	Médiane	Valeur moyenne	S <sub>x</sub>	Min.	Max.
Acide butyrique	C4	3,49	3,48	0,14	3,18	3,75
Acide caproïque	C6	2,01	2,01	0,06	1,88	2,11
Acide caprylique	C8	1,13	1,12	0,06	0,99	1,20
Acide caprique	C10	2,33	2,32	0,18	1,92	2,56
Acide caprolique	C10:1 c9	0,24	0,25	0,03	0,20	0,31
Acide laurique	C12	2,72	2,71	0,22	2,25	3,04
Acide myristique	C14	9,64	9,78	0,59	9,07	11,06
Acide myristoléique	C14:1 c9	0,67	0,68	0,11	0,50	0,90
Acide pentadécanoïque	C15	1,03	1,05	0,08	0,92	1,22
Acide palmitique	C16	24,83	24,91	2,55	20,87	29,32
Acide palmitoléique	C16:1 c9	1,05	1,04	0,17	0,74	1,27
Acide heptadécanoïque	C17	0,50	0,49	0,05	0,40	0,63
Acide stéarique	C18	10,51	10,62	1,25	7,97	12,71
Acide oléique	C18:1 c9	17,16	17,60	2,00	13,49	22,24
Acide $\alpha$ -linoléique	C18:2 c9c12	1,89	1,86	0,17	1,49	2,11
Acide arachidique	C20	0,19	0,20	0,03	0,14	0,27
Acide $\gamma$ -linoléique	C18:3 c9c12c15	0,78	0,79	0,09	0,66	1,00
Acide eicosapentaénoïque	C20:5 (EPA) (n-3)	0,07	0,08	0,03	0,06	0,18
Acide docosapentaénoïque	C22:5 (DPA) (n-3)	0,10	0,11	0,01	0,09	0,15
Acide docosahexaénoïque	C22:6 (DHA) (n-3)	0,01	0,02	0,00	0,01	0,03
Rapport acide oléique / acide palmitique	C18:1 c9 / C16	0,70	0,71	0,09	0,54	0,94

L'alimentation à base de graines oléagineuses (lin, colza) est une mesure recommandée pour améliorer le profil des acides gras en cas de problème de la pâte pendant la période d'alimentation à base de fourrage sec. Comme les propriétés de la pâte, telles que sa fermeté et son élasticité, dépendent en grande partie de la teneur en eau du fromage, la composition de la graisse du lait est moins importante dans les fromages à pâte mi-dure comme le

Raclette du Valais que dans les fromages à pâte dure. Dans la présente étude, 21 fromages issus de la production d'hiver ont été analysés (date de production 29.11.17). Cette circonstance explique le fait que le rapport moyen entre l'acide oléique et l'acide palmitique était de  $0,70 \pm 0,09$  (**tableau 9**).

La composition de la graisse du lait est également intéressante d'un point de vue nutritionnel. Le **tableau 10** contient les résultats d'analyse regroupés en fonction de critères nutritionnels.

**Tableau 10:** Composition de la matière grasse du lait du Raclette du Valais AOP issu de la production hivernale par groupes d'acides gras importants, d'un point de vue nutritionnel (données en g/100g de matière grasse).

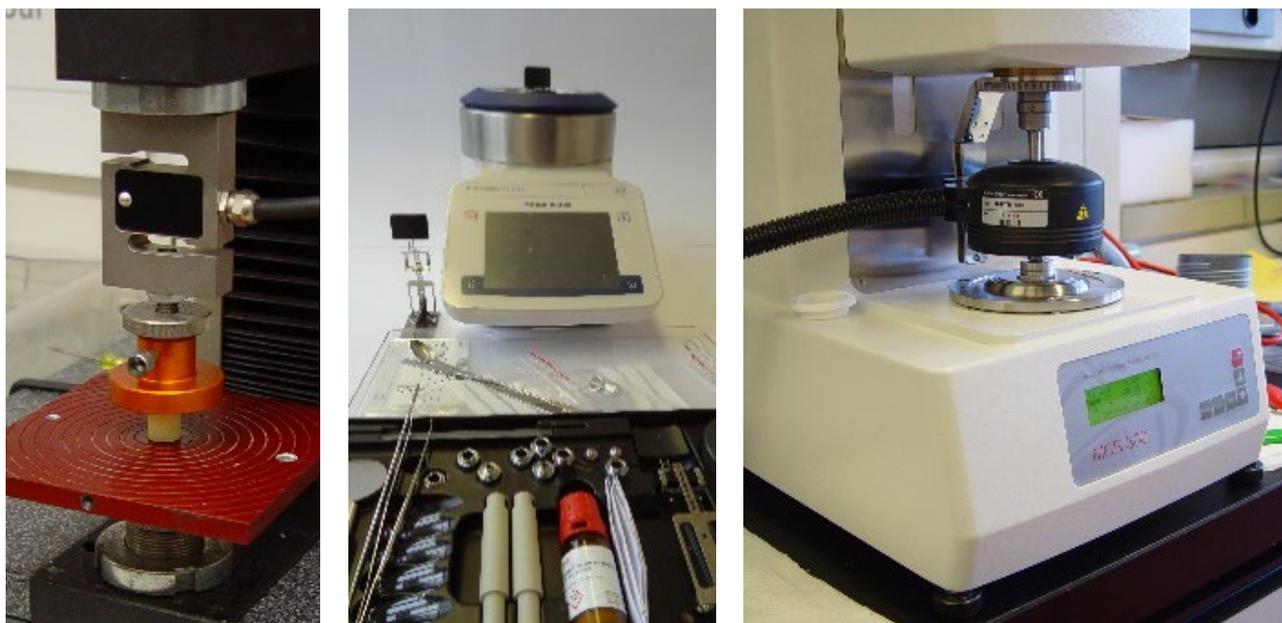
Acide gras	Abréviation	Médiane	Valeur moyenne	s <sub>x</sub>	Min.	Max.
Total des acides gras à chaîne courte	C4 - C10	9,24	9,18	0,31	8,39	9,70
Total des acides gras à chaîne moyenne	C12 - C16	42,42	42,32	3,46	36,94	48,85
Total des acides gras à longue chaîne	C17 - C22	39,09	39,66	3,82	31,25	46,93
Acides gras saturés totaux		60,22	60,86	3,63	56,00	66,42
Acides gras insaturés totaux		29,65	30,18	2,67	24,38	35,40
Total des acides gras mono-insaturés	MUFA	25,04	25,38	2,34	20,27	30,17
Total des acides gras polyinsaturés	AGPI	4,94	4,80	0,39	4,11	5,32
Acides linoléiques conjugués totaux	CLA	0,92	0,96	0,13	0,81	1,29
Total des acides gras oméga 3		1,22	1,24	0,13	1,06	1,50
Total des acides gras oméga 6		2,91	2,90	0,23	2,54	3,42

La matière grasse du lait contenue dans le fromage sous la forme de globules gras reste pratiquement inchangée pendant la fabrication et l'affinage du fromage. Plus de 95% de la graisse du lait sont constitués de triglycérides, dans chacun desquels trois acides gras sont estérifiés avec du glycérol. Sous l'action d'enzymes lipolytiques (lipases microbiennes ou lipoprotéine lipase du lait), une petite partie de la matière grasse du lait présente sous forme de triglycérides est décomposée en acides gras libres et en glycérol. Les deux acides gras à chaîne courte, l'acide butyrique (C4) et l'acide caproïque (C6), sont déjà perçus à de très faibles concentrations. À de faibles concentrations, ces acides carboxyliques volatils ont une influence positive sur l'arôme du fromage, à des concentrations élevées, ils provoquent très rapidement un défaut d'arôme rance qui conduit à la déclassification du fromage.

## 4 Caractérisation physique

### 4.1 Données méthodologiques

Les appareils d'analyse utilisés pour déterminer les propriétés physiques sont présentés dans la **figure 3**. Le test de compression uniaxiale a été réalisé selon la méthode ISO (ISO, 2006). L'analyse a été effectuée avec une machine de test universelle Zwick (Zwick, Ulm, Allemagne). Le point de ramollissement a été mesuré à l'aide d'un appareil Mettler-Toledo (DP70) (Mettler-Toledo, Greifensee, Suisse). La mesure des propriétés de fonte a été effectuée selon la méthode de Guggisberg *et al.* (2007) en utilisant un rhéomètre MCR300 (Anton-Paar, Buchs, Suisse).



**Figure 3:** Appareils d'analyse utilisés pour déterminer les propriétés physiques du Raclette du Valais: test de compression uniaxiale avec la machine de test universelle Zwick (à gauche); mesure du point de ramollissement avec l'appareil Mettler-Toledo DP70 (au centre) et mesure des propriétés de fonte avec le rhéomètre MCR300 (à droite).

#### 4.1.1 Explications des méthodes utilisées

##### Test de compression uniaxiale:

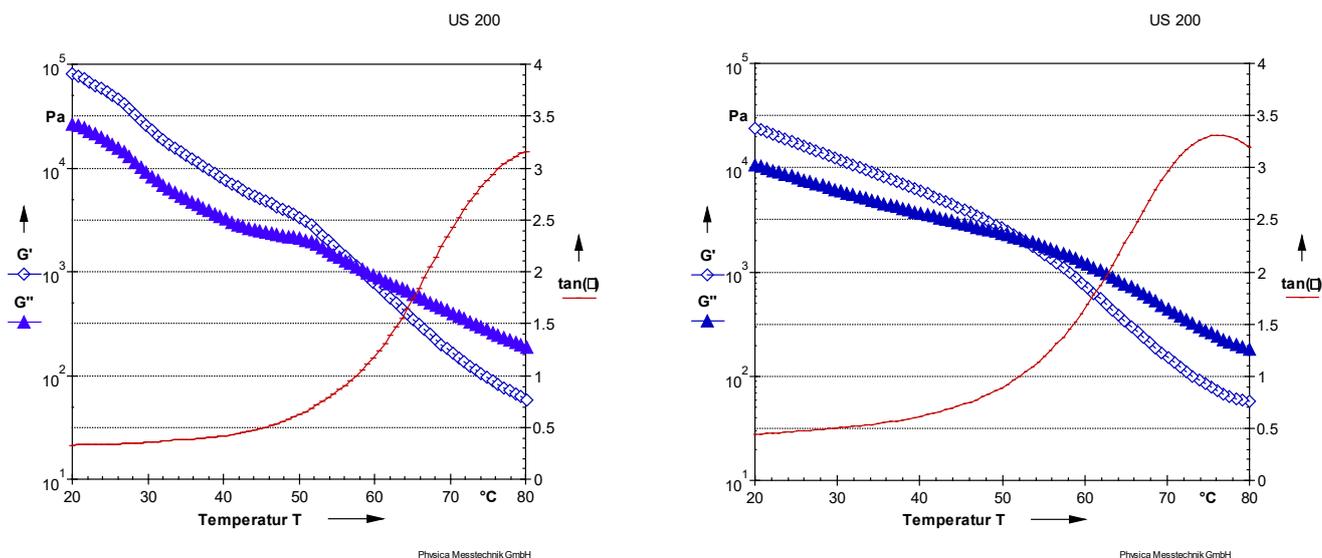
La fermeté de la pâte (à 15°C) peut être mesurée par la déformation de l'échantillon. Comme le fromage à raclette ne présente aucun comportement de rupture typique comme l'Emmental ou le Gruyère affinés, la force (F[N]) à 33% de déformation a été sélectionnée. De plus, cette valeur peut très bien être comparée à G' (propriétés élastiques) à 20°C de la méthode de mesure des propriétés rhéologiques de fonte (corrélation  $r = 0,914$ ).

##### Point de ramollissement:

Pour la fonte et la solidification ultérieure du fromage à raclette, on vise les valeurs de température les plus basses possibles. Le fromage doit rester «liquide» sur l'assiette aussi longtemps que possible. L'analyse du point de ramollissement enregistre uniquement les données pendant le chauffage de l'échantillon de fromage et non pendant la solidification ultérieure (processus de refroidissement). Contrairement à la méthode rhéologique, par laquelle les processus de fonte et de solidification sont analysés, une évaluation complète des propriétés de fonte basée sur la détermination du point de ramollissement n'est pas possible avec l'appareil Mettler-Toledo DP70.

##### Détermination rhéologique des propriétés de fonte:

La **figure 4** montre des «rhéogrammes» typiques pour le chauffage du fromage à raclette de 20°C à 80°C et le refroidissement ultérieur de 80°C à 20°C.



**Figure 4:** Détermination rhéologique des propriétés de fonte du fromage à raclette: les deux rhéogrammes montrent le chauffage du fromage à raclette de 20°C à 80°C (à gauche) et le refroidissement ultérieur de 80°C à 20°C (à droite).

Le rhéomètre enregistre les propriétés élastiques ( $G'$ ,  $\diamond$ ) et les propriétés visqueuses ( $G''$ ,  $\blacktriangle$ ) pendant le chauffage et le refroidissement de l'échantillon de fromage. Au début du processus de chauffage (rhéogramme à gauche), le fromage a une forme solide à 20°C, autrement dit, les propriétés élastiques dominent ( $G' > G''$ ). Pendant le chauffage continu de l'échantillon de 20° à 80°C, l'échantillon fond (transition de phases: solide  $\rightarrow$  liquide).

Le point de fonte de l'échantillon est atteint lorsque les lignes des propriétés élastiques et visqueuses se chevauchent ( $G' = G''$ ). La ligne rouge ( $\tan(\delta)$ ) montre le rapport  $G''/G'$  pendant le processus de fonte. D'après la définition, le point de fonte se situe à  $\tan(\delta) = 1$  (axe y de droite). Au-dessus du point de fonte, les propriétés visqueuses dominent sur les propriétés élastiques ( $G'' > G'$ ).

Le rhéogramme à droite montre le processus de refroidissement de 80°C à 20°C. Le point de solidification est atteint lorsque les propriétés visqueuses et élastiques sont à nouveau égales ( $G'' = G'$ , ou  $\tan(\delta) = 1$ ). D'un point de vue sensoriel, il est avantageux que le fromage fondu reste «liquide» sur l'assiette le plus longtemps possible. Les valeurs du point de fonte entre 55° et 60°C et du point de solidification entre 50°C et 55°C sont considérées comme des valeurs idéales. Il est même très rare qu'un échantillon de fromage se solidifie en dessous de 50°C. Des propriétés de fonte défavorables sont présentes si le point de solidification est nettement plus élevé que le point de fonte, car la masse du fromage change considérablement pendant la transition de phases (par exemple, «excrétion d'huile», modification de la structure). Dans ces fromages, aucun comportement réversible ne peut être observé pendant les phases de chauffage et de refroidissement.

## 4.2 Propriétés de la pâte et de fonte

Le **tableau 11** montre les résultats du test de compression uniaxiale. La variation de la force à 33% de déformation est assez large, avec des valeurs comprises entre 2,9 et 11,2 N. Cela indique des différences significatives dans la teneur en eau, en graisse, en calcium et en protéines des échantillons testés.

**Tableau 11:** Fermeté de la pâte du Raclette du Valais AOP à 120 jours (test de compression uniaxiale)

Paramètre	Unité	Médiane	Valeur moyenne	$s_x$	Min.	Max.
Force à 33 % de déformation	N	5,9	6,5	2,4	2,9	11,2

Le **tableau 12** présente un résumé des résultats de la détermination du point de ramollissement. Les études précédentes sur le Raclette Suisse (2003 à 2006), dans lesquelles les fromages avec un point de ramollissement de < 58,5°C ont été jugés de bonne qualité, peuvent servir de comparaison. La majorité des 21 Raclette du Valais examinés se situaient en dessous de la valeur indicative recommandée pour le Raclette Suisse, ce qui indique un bon comportement de fonte du Raclette du Valais AOP analysé.

**Tableau 12:** Point de ramollissement du Raclette du Valais AOP à 120 jours

Paramètre	Unité	Médiane	Valeur moyenne	s <sub>x</sub>	Min.	Max.
Point de ramollissement	°C	55,3	54,9	2,1	51,5	59,7

Les résultats de la détermination rhéologique des propriétés de fonte sont résumés dans le **tableau 13**. Le **tableau 14** contient des valeurs comparatives provenant d'études sur le comportement de fonte du Raclette Suisse (2003 à 2006). Les valeurs de référence compilées dans le **tableau 14** ont été établies par comparaison par paires avec les données sensorielles des fromages. Les attributs «séparation de la graisse, viscosité, filandreux et gommeux» ont été sélectionnés pour la comparaison.

**Tableau 13:** Données rhéologiques sur le comportement de fonte du Raclette du Valais AOP à 120 jours

Paramètre	Unité	Médiane	Valeur moyenne	s <sub>x</sub>	Min.	Max.
G' (20°C, avant chauffage)	Pa	74'770	73'377	19'249	42'140	117'000
G'' (20°C, avant chauffage)	Pa	23'430	23'844	5'960	14'660	36'820
Point de fonte	°C	57,8	57,5	2,6	51,9	60,8
Viscosité au point de fonte	Pa s	120,9	123,7	32,1	76,5	224,6
tan δ max. (chauffage)	[-]	2,97	2,96	0,90	1,85	4,97
Température à tan δ max. (chauffage)	°C	77,0	77,2	2,0	74,0	80,0
G' (80°C)	Pa	58,5	67,4	31,6	27,5	127,4
G'' (80°C)	Pa	165,7	174,1	55,2	74,5	272,3
tan δ max. (refroidissement)	[-]	3,06	2,93	0,78	1,75	4,62
Température à tan δ max. (refroidissement)	°C	77,0	76,7	2,7	70,0	80,0
Point de solidification	°C	53,6	53,8	3,2	48,5	64,6
Viscosité au point de solidification	Pa s	298,4	296,4	73,4	166,1	429,4
G' (20°C, après refroidissement)	Pa	32'420	52'812	98'586	20'850	481'900
G'' (20°C, après refroidissement)	Pa	14'210	20'203	28'489	9'301	143'500

Selon la comparaison avec les valeurs indicatives du Raclette Suisse, les valeurs moyennes du Raclette du Valais laissent conclure dans l'ensemble à de bonnes propriétés de fonte. Seul le paramètre G' (20°C, avant chauffage) de 73'377 est supérieur à la valeur indicative de 71'805 du Raclette Suisse. La tendance à une plus grande séparation de la matière grasse pourrait s'expliquer par le fait que le Raclette du Valais contient sensiblement plus de matière grasse (valeurs moyennes: matière grasse 315 g/kg, MG/ES 540) que le Raclette Suisse (valeurs moyennes: matière grasse 288 g/kg, MG/ES 488).

**Tableau 14:** Valeurs indicatives rhéologiques pour un bon comportement de fonte du Raclette Suisse

Paramètre	Unité	Séparation de la graisse	Viscosité	Filandreux	Gommeux
G' (20°C, avant chauffage)	Pa	< 71'805			
G'' (20°C, avant chauffage)	Pa	< 24'573			
Point de fonte viscosité	Pa s		<192	<188	<166
G' (80°C)	Pa		<121	<118	<110
G'' (80°C)	Pa		<258	<251	<226
Point de solidification	°C			<56	<56
Viscosité au point de solidification	Pa s		<440	<440	<382
G' (20°C, après refroidissement)	Pa				<95'000
G'' (20°C, après refroidissement)	Pa				<37'000

Sur la base d'évaluations statistiques des données relatives au Raclette Suisse, les propriétés de fonte peuvent être influencées comme suit: l'attribut «séparation de la graisse» peut être influencé positivement en augmentant la teneur en eau et en diminuant le MG/ES. Pour les attributs «filandreux», «viscosité» et «gommeux», une faible teneur en calcium, une viscosité la plus faible possible à 80°C et des valeurs NPN/TN élevées sont considérées comme ayant une influence positive. La teneur en calcium est déterminée d'une part par la composition (protéines, matière grasse, eau) et peut être réduite d'autre part par des mesures technologiques (par exemple, le délactosage). Des valeurs NPN/TN élevées sont obtenues par un affinage suffisamment long des fromages.

## 5 Profil aromatique

### 5.1 Données méthodologiques

Les échantillons de fromage ont été congelés dans de l'azote liquide puis réduits en poudre à l'aide d'un mixer afin d'homogénéiser la masse fromagère. Ils ont ensuite été stockés à -20°C jusqu'aux analyses. Deux fois deux grammes par échantillon de fromage ont été décongelés puis extraits par la méthode d'espace de tête et analysés par chromatographie gazeuse couplée avec un spectromètre de masse pour l'identification et la quantification des composés volatils (HS-SPME-GC-MS). Un standard interne deutéré (3-méthylbutanal- $d_6$ ) a été ajouté à l'échantillon pour la quantification du 3-méthylbutanal. Les échantillons ont été randomisés avant les analyses afin d'éviter les effets de mémoire de l'appareil. Pour le profil aromatique, une sélection de 53 composés odorants a été déterminée; ils ont été subdivisés en neuf groupes en fonction de leur structure chimique (**tableau 15**). L'identification des composés volatils a été réalisée par spectromètre de masse en comparant les spectres issus de la molécule mesurée avec une base de données universelle (NIST14). Pour standardiser le nombre ionique de chaque composé, le nombre ionique de l'ion caractéristique a été divisé par le facteur de proportionnalité indiqué dans le **tableau 15**. Le facteur de proportionnalité correspond à la fréquence relative d'un seul ion dans un spectre de masse par rapport à l'ion dominant, auquel on attribue arbitrairement une fréquence de 1000. Les facteurs de proportionnalité indiqués dans le **tableau 15** ont été tirés de spectres déposés dans la base de données du NIST14. L'analyse HS-SPME-GC-MS a été effectuée en double. Pour l'évaluation semi-quantitative, la valeur moyenne du nombre d'ions normalisé de chaque composé a été utilisée.

Dans une première évaluation, les 53 composés odorants ont été répartis dans les neuf classes de substances répertoriées dans le **tableau 15** en fonction de leurs propriétés chimiques.

**Tableau 15:** Répartition des 53 composés odorants enregistrés dans le profil aromatique selon les classes de substances

Composé	Ion [m/z] <sup>1</sup>	Facteur	Note olfactive	Famille d'arômes <sup>2</sup>	Seuil olfactif dans l'eau [ppb].
<b>Composés soufrés</b>					
Méthanethiol	48	899	Ail	1	0,02
Sulfure de diméthyle	62	1000	Oignon	1	0,3-1
Thiocyanate de méthyle	90	210	Oignon	1	ND
Disulfure de diméthyle	94	999	Oignon	1	0,16-12
Diméthyltrisulfure	126	999	Oignon	1	0,005-0,01
Méthionique	104	342	Pomme de terre	1	0,2
2-méthyltétrahydrothiophén-3-one	116	527	Soufré, fruité, note de baies	1	ND
3-méthylmercaptopropanol	106	1000	Menthe, camphre médicinal	1	ND
Diméthylsulfone	94	477	soufré, brûlé	1	ND
Acide 3-méthylthiopropanoïque	120	321	Oignon	1	ND
Acide 4-méthylthiobutanoïque	134	742	Piquant, note de fromage	1	ND
<b>Ester</b>					
Acétate d'éthyle	88	35	Ethéré, fruité	2	5
Butyrate d'éthyle	88	568	Fruité	2	1
Isovalérate d'éthyle	88	999	Fruité	2	0.1
Hexanoate d'éthyle	99	518	Fruité	2	1
Butyrate de pentyle	89	130	Fruité	2	210
Caprylate d'éthyle	127	243	Fruité, cire	2	200
<b>Alcools</b>					
2-butanol	59	181	Fruité	2	16000
2-pentanol	55	173	Fermenté, sucré, fruité	2	45000
2-heptanol	83	67	Fruité, vert	2	250
1-hexanol	69	239	Vin, fruité	2	2500
2- ou 3-méthylbutanol	70	613	Fermenté, malté	6	250-300
<b>Lactones</b>					
Octalactone	99	999	Noix de coco	2	400
Décalacton	99	999	Noix de coco	2	100
<b>Phénols</b>					
4-méthylphénol (p-crésol)	107	999	Phénolique, animal	7	55
3-méthylphénol (m-crésol)	108	999	Phénolique, animal, boisé	7	680

Tableau 15: suite

Composé	Ion [m/z] <sup>1</sup>	Facteur	Note olfactive	Famille d'arômes <sup>2</sup>	Seuil olfactif dans l'eau [ppb].
<b>Acides carboxyliques</b>					
Acide acétique	60	747	Vinaigre	3	22000
Acide propionique	74	999	Note de fromage	3	20000
Acide isobutyrique	88	79	Note de miel, rance	3	8100
Acide butyrique	88	18	Note de fromage	3	240
Acide isovalérique	87	170	Note de fromage	3	500
Acide n-pentanoïque	87	15	Rance	3	3000
Acide iso-caproïque	101	38	Note de fromage	3	3000
Acide hexanoïque	87	134	Gras, note de fromage	3	3000
Acide octanoïque	115	100	Gras, fromager, rance	3	3000
Acide nonanoïque	115	100	Note de fromage, cire	3	3000
Acide décanoïque	129	334	Gras, rance	3	10000
<b>Cétones</b>					
2-butanone	72	250	Chimique, fruité, vert	2	50000
2-pentanone	71	97	Sucré, bananes, fermenté	2	70000
2,3-butanedione (diacétyle)	86	186	Beurre	4	2.3-6.5
3-Hydroxybutanone (Acétoïne)	88	99	Beurre	4	800
2-heptanones	114	40	Epicé, boisé	5	140-3000
2-nonanone	142	70	Vert, fruité	2	5-200
2-undécanone	170	69	Fruité, gras	2	7
<b>Aldéhydes</b>					
2-méthylbutanal	86	113	Malté	6	1
3-méthylbutanal	86	110	Malté	6	0.2-2
Octanal	84	564	Agrumes, écorce d'orange	2	0.7
Nonanal	98	406	Agrumes, frais, vert	2	1
Phénylacétaldéhyde	120	282	Floral, note de miel	2	4
<b>Terpènes</b>					
α-Pinène	121	136	Sapin, vert, épicé	5	6
β-Pinène	136	8	Epicé, sapin, boisé	5	140
α-Limonène	136	10	Agrumes, vert	5	10
o-Cymen	134	256	Agrumes, boisé	5	100

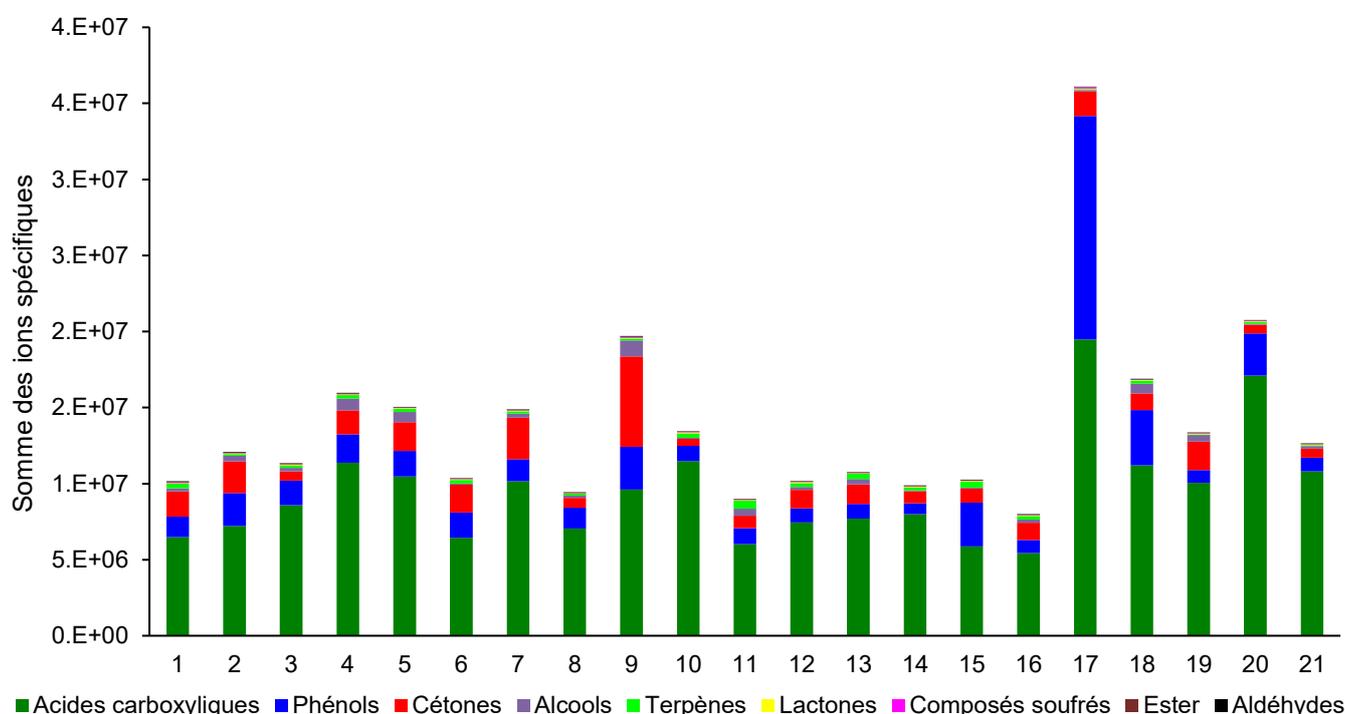
<sup>1</sup> Ion sélectionné [m/z]

<sup>2</sup> Familles d'arômes: ail/oignon (1) ; fruité/floral (2) ; fromage (3) ; beurré (4), épicé (5), malté (6) ; animal (7)

ND : non déterminé

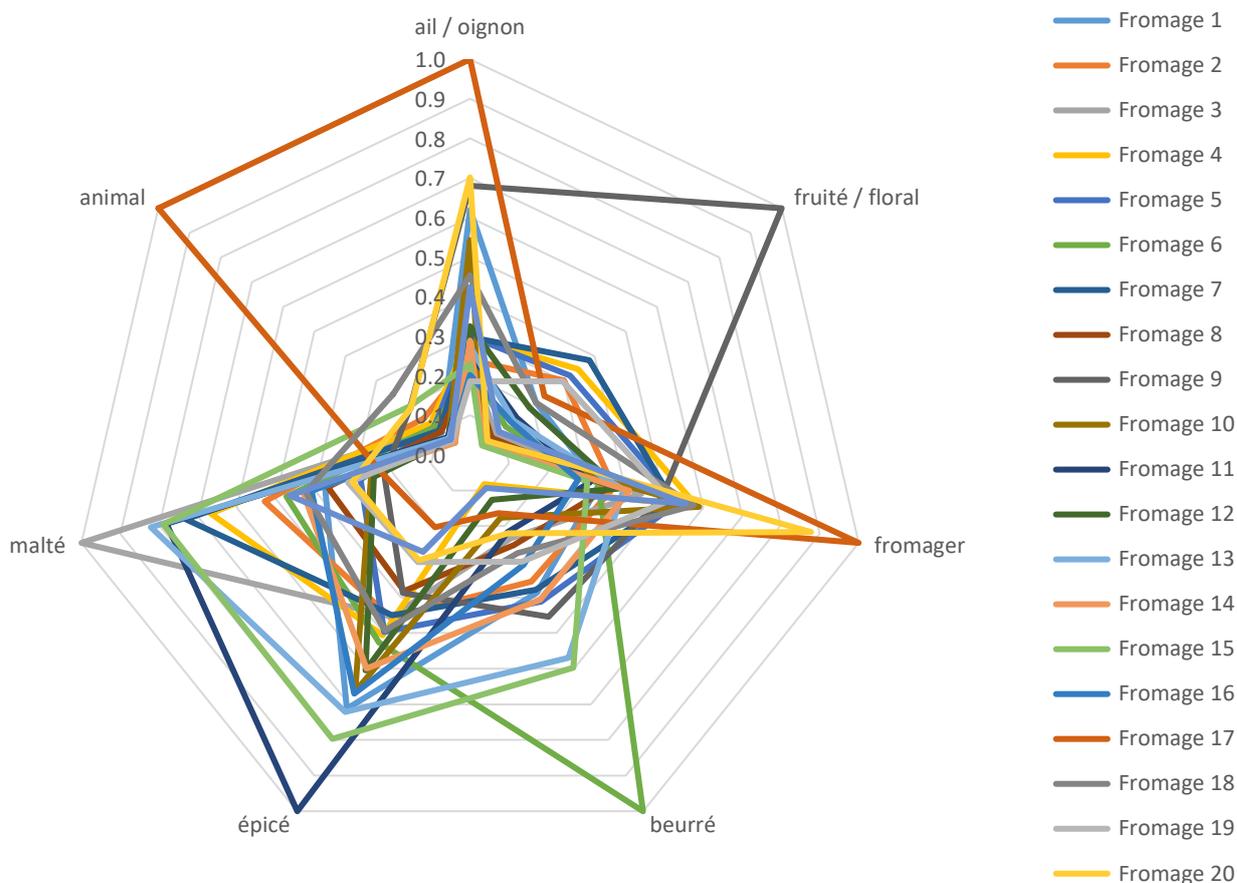
## 5.2 Profil aromatique du Raclette du Valais

La **figure 5** montre une comparaison semi-quantitative des classes de substances répertoriées dans le **tableau 15**. Pour la représentation semi-quantitative des neuf classes de substances, le nombre d'ions standardisé des composés individuels a été additionné. Du point de vue chimique, la composition des composés odorants du fromage est dominée par les acides carboxyliques, les phénols et les cétones. Les autres groupes chimiques contribuent aux propriétés spécifiques de chaque fromage. La perception de l'odeur du fromage dépend de plusieurs paramètres. Outre la concentration de molécules volatiles présentes, le seuil de perception de ces molécules et la composition de la matrice (phase aqueuse, phase huileuse) sont également déterminants pour la perception de l'arôme du fromage. La répartition chimique des composés caractéristiques de l'arôme du fromage varie d'un fromage à l'autre. Les variations observées ont un impact direct sur l'arôme du fromage et s'expliquent par des influences spécifiques de la fabrication, de l'affinage et du terroir. La **figure 5** montre que l'arôme des fromages étudiés est largement déterminé par la concentration des acides carboxyliques volatils et la concentration des cétones et de composés phénoliques, qui sont responsables des notes de fromage, fruitée, beurrée et animale.



**Figure 5:** Comparaison de neuf classes de substances odorantes dans 21 Raclette du Valais AOP. Au total, 53 composés ont été détectés par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse et attribués aux classes de substances répertoriées en fonction de leur structure chimique.

Dans une deuxième évaluation, les 53 composés mesurés ont été classés en sept familles d'arômes (ail/oignon, fruité/floral, fromager, beurré, épicé, malté, animal) sur la base de leurs notes olfactives (**tableau 15**). Pour la représentation semi-quantitative des sept familles d'arômes, le nombre d'ions standardisé des différents composés a été additionné. La **figure 6** illustre d'une part les points communs aromatiques des 21 Raclette du Valais AOP analysés. D'autre part, le regroupement des composés odorants en fonction des familles d'arômes permet de mettre en évidence les particularités sensorielles perceptibles des différents fromages. Par exemple, le fromage 6 a une note beurrée prononcée, tandis que le profil aromatique du fromage 17 contient une forte note animale. Le fromage 9 a une note fruitée intense par rapport aux autres fromages.



**Figure 6:** Profil aromatique des 21 Raclette du Valais AOP. Au total, 53 composés ont été détectés par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse et attribués aux sept familles d'arômes en fonction de leurs notes olfactives (cf. **tableau 15**).

## 6 Caractérisation sensorielle

### 6.1 Données méthodologiques

La caractérisation sensorielle des 21 échantillons de fromage a été effectuée par le panel d'analyse sensorielle d'Agroscope Liebefeld. Les fromages ont été évalués tant à froid et qu'à l'état fondu.

#### 6.1.1 Caractérisation sensorielle du fromage froid

Le panel de dégustation qui a participé à l'évaluation des fromages à l'état froid était composé de 26 personnes. En ce qui concerne la texture, les attributs longueur de la pâte et fermeté de la pâte ont été évalués. Pour l'évaluation du goût, les attributs sucré, salé, acide et amer ont été évalués. En plus de ces quatre saveurs, l'intensité de l'arôme des fromages a également été évaluée. La caractérisation de l'arôme était basée sur une liste de sélection de 12 attributs aromatiques (lait frais, crémeux, note beurrée, note de fromage, animal, noisette, oignon, fruité, caramel, corsé, umami, autres notes aromatiques), à partir de laquelle les dégustateurs-trices pouvaient sélectionner les attributs et évaluer les fromages. Pour la compilation des attributs aromatiques caractéristiques, seuls des attributs pour lesquels au moins 20% des échantillons ont été évalués ont été pris en compte.

Les éventuels défauts d'arômes ont également été évalués à l'aide d'une liste de sélection des 12 attributs suivants: brûlant, animal, moisi, rance, note de morge du fromage, chimique, métallique, malté, pourri/putréfié, acide butyrique, acide propionique, autres défauts d'arômes. L'évaluation de l'intensité des attributs demandés a été effectuée à l'aide d'une échelle linéaire sans échelle.

### 6.1.2 Caractérisation sensorielle du fromage fondu

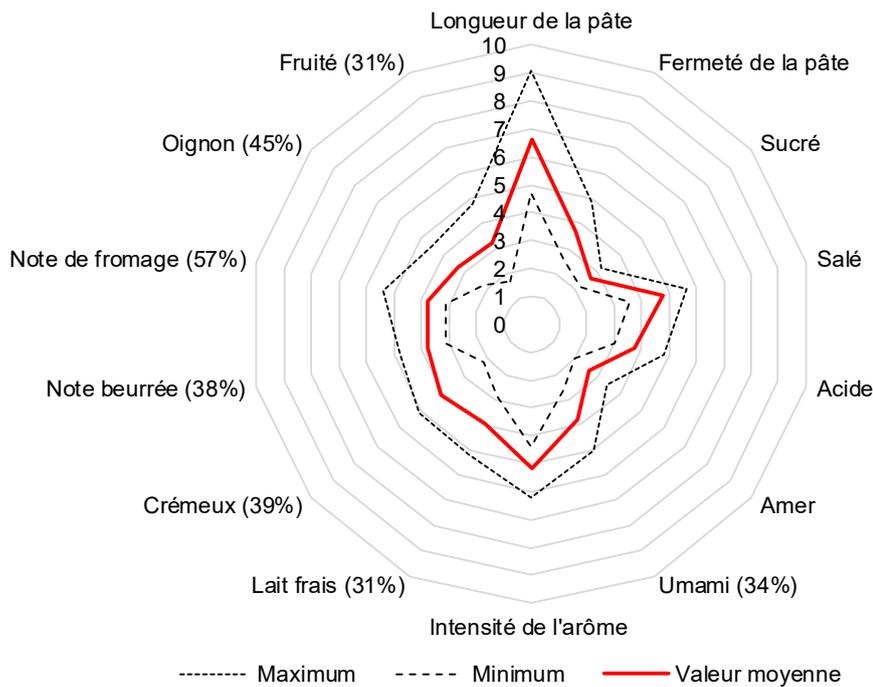
Le panel de dégustation pour l'évaluation du fromage fondu était composé de 21 dégustateurs-trices. Les échantillons de fromage (environ 15 g, dimensions: 8 x 3 cm, épaisseur 4 mm) ont été fondus dans des petites poêles à raclette (temps de fonte 1 min 45 s; niveau de chauffage le plus élevé) et évalués dans la petite poêle immédiatement après l'avoir retirée du four à raclette (Stöckli AG, type 0200). Pour l'évaluation des propriétés de fonte, les attributs séparation de la graisse, viscosité, filandreux et gommeux ont été utilisés. Les défauts dans le comportement de fonte ont été enregistrés à l'aide d'une liste de sélection avec les attributs suivants: vitreux, farineux, collant, autres défauts. Pour l'évaluation du goût et de l'arôme ainsi que pour l'enregistrement des défauts d'arôme, les mêmes attributs ont été utilisés que pour l'évaluation des fromages dégustés à froid.

## 6.2 Caractéristiques sensorielles du Raclette du Valais

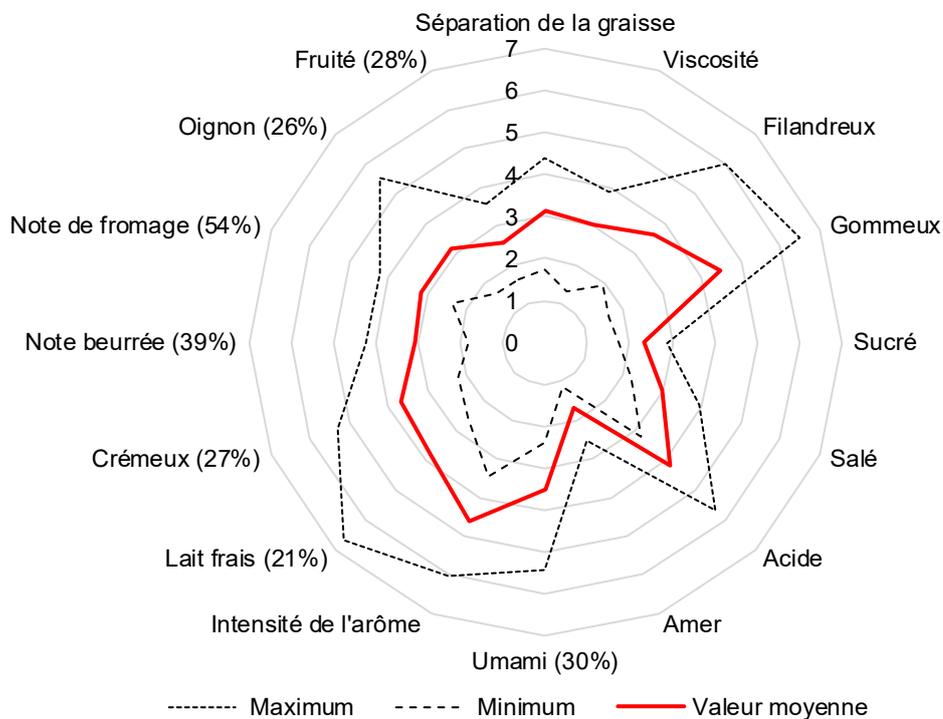
Selon le cahier des charges, le Raclette du Valais a une pâte lisse, souple et fine. Son odeur est lactique fraîche (beurre frais, crème fraîche) et florale. Son goût est lactique fraîche, soutenu par une note acide, et présente une note végétale et fruitée dominante.

La **figure 7** résume les résultats de l'évaluation sensorielle des fromages à l'état froid. L'évaluation des 21 fromages a été réalisée à 120 jours. La longueur élevée de la pâte (moyenne  $6,6 \pm 1,2$ ) et sa faible fermeté ( $3,7 \pm 0,6$ ) sont caractéristiques de la texture lisse et fine du Raclette du Valais AOP. Le goût et l'arôme étaient encore relativement doux à cet âge (intensité moyenne de l'arôme  $5,2 \pm 0,4$ ). Le goût des fromages se caractérisait par une note agréablement salée (valeur moyenne  $4,8 \pm 0,5$ ; teneur en sel des fromages  $19,7 \pm 1,8$  g/kg) et légèrement acide (valeur moyenne  $3,8 \pm 0,4$ ) ainsi que par le goût umami (valeur moyenne  $3,8 \pm 0,6$ ). Les notes sucrées et amères, en revanche, n'ont été que faiblement perçues. En ce qui concerne l'arôme, les dégustateurs-trices ont bien perçu l'odeur de fromage et les notes d'oignon; en outre, des notes crémeuses, beurrées et fruitées ainsi que des notes de lait frais étaient également caractéristiques. Parmi les attributs associés aux défauts du goût et de l'arôme, les plus fréquemment cités sont les suivants: brûlant (24%, moyenne  $3,0 \pm 1,0$ ), animal (21% ; moyenne  $2,7 \pm 0,9$ ) et métallique (moyenne  $2,6 \pm 0,9$ ).

Les résultats de l'évaluation à l'état fondu du Raclette du Valais sont résumés dans la **figure 8**. Les fromages fondus n'ont présenté qu'une faible séparation de la graisse (valeur moyenne  $3,1 \pm 0,7$ ) et une viscosité plutôt basse (valeur moyenne  $3,0 \pm 0,6$ ). Les attributs gommeux (moyenne  $4,5 \pm 1,2$ ) et filandreux (moyenne  $3,6 \pm 1,0$ ) caractérisent un peu plus fortement le comportement de fonte, bien qu'il faille noter que de grandes différences ont été trouvées entre les 21 fromages en ce qui concerne ces attributs. La masse fondue de certains fromages présentait un aspect légèrement vitreux (22% ; moyenne  $1,9 \pm 0,6$ ), sinon peu d'autres défauts ont été enregistrés dans le comportement de fonte. Les fromages fondus ont été perçus comme moins salés (moyenne  $3,0 \pm 0,5$ ) et moins amers (moyenne  $1,7 \pm 0,4$ ), mais légèrement plus acides (moyenne  $4,2 \pm 0,7$ ) que les fromages dégustés à froid. La réduction souvent observée de l'amertume dans le fromage fondu s'explique généralement par le fait que les peptides amers, principalement hydrophobes, passent dans la phase huileuse lors de la fonte et sont donc moins fortement perçus. L'intensité de l'arôme et le profil aromatique des fromages fondus ont été évalués de la même manière que ceux des fromages dégustés à froid. En plus d'un goût subtil de fromage, les dégustateurs-trices ont perçu principalement des notes de beurre et de crème. En outre, les fromages étaient également caractérisés par des notes de lait frais, d'oignon et des notes fruitées. Quant aux défauts de goût et d'arôme, ce sont les deux attributs métallique (20%: moyenne  $3,6 \pm 1,0$ ) et animal (18%; moyenne  $3,2 \pm 1,5$ ) qui ont été mentionnés le plus fréquemment. L'attribut brûlant, par contre, a été à peine perçu dans les fromages fondus (7%; moyenne  $2,9 \pm 1,3$ ).



**Figure 7:** Profil sensoriel du Raclette du Valais AOP évalué à froid. Pour les attributs relatifs à la saveur et à l'arôme à sélectionner dans une liste, le nombre relatif de mentions est indiqué entre parenthèses.



**Figure 8:** Profil sensoriel du Raclette du Valais AOP évalué à l'état fondu. Pour les attributs relatifs à la saveur et à l'arôme à sélectionner dans une liste, le nombre relatif de mentions est indiqué entre parenthèses.

## 7 Caractérisation microbiologique

### 7.1 Analyse du microbiome

Le microbiome décrit la totalité de tous les micro-organismes présents dans un écosystème. Dans les analyses du microbiome du fromage, le matériel génétique est extrait directement de l'échantillon de fromage et séquencé. La principale différence par rapport à une analyse microbiologique classique est que les micro-organismes ne sont plus cultivés et que, de cette façon, les micro-organismes non cultivables peuvent également être détectés. Chez Agroscope, les analyses du microbiome sont effectuées à l'aide d'une méthode basée sur le séquençage du gène codant l'ARNr 16S. Dans cette procédure, des parties du gène de l'ARNr 16S bactérien dans le matériel génétique extrait sont amplifiées par PCR, puis séquencées. Le séquençage du gène codant l'ARNr 16S est particulièrement intéressant, car ce gène est universellement présent chez toutes les bactéries, mais diffère d'une espèce bactérienne à l'autre. Par conséquent, en déterminant la séquence de base de ce gène, puis en la comparant à des séquences connues, il est possible de déterminer l'espèce bactérienne. Dans le cadre du projet de recherche d'Agroscope «Biodiversité microbienne», la base de données DairyDB pour les microorganismes importants pour l'industrie laitière a été établie ces dernières années en collaboration avec l'INRAE en France (Meola *et al.*, 2019). Elle contient plus de 10 000 séquences complètes du gène codant l'ARNr 16S provenant de bactéries et d'archées (archéobactéries) et couvre environ 1 700 genres ou 4 000 espèces. L'analyse du microbiome basée sur l'ARNr 16S est une méthode de recherche d'Agroscope qui n'a pas été validée à des fins de diagnostic. Malgré l'utilisation d'une base de données tenue à jour pour l'identification des séquences amplifiées, une vérification de l'identification, par exemple au moyen d'analyses qPCR spécifiques aux espèces, est recommandée pour consolider les résultats.

#### 7.1.1 Extraction de l'ADN

Sur chaque fromage, 10 g de pâte et 10 g de croûte ont été prélevés de manière aseptique et homogénéisés dans 90 ml d'eau peptonée à l'aide d'un stomacher. Pour le traitement de l'échantillon de pâte, 10 ml d'homogénat ont été centrifugés avec 50 µl de SDS à 10% (4000 g, 30 min, 20°C) et le culot a été remis en suspension dans le tampon G2 (Qiagen), tandis que pour le traitement de l'échantillon de croûte, 1 ml d'homogénat a été centrifugé avec 600 µl de GuHCl 8M (4000 g, 30 min, 20°C) et le culot a été lavé dans 1 ml de GuHCl 4M. Les cellules ont ensuite été lysées à l'aide de billes de zircone dans un broyeur de billes et l'ADN a été extrait à l'aide du kit de tissu ADN EZ1 avec un robot d'extraction (BioRo-bot EZ1, Qiagen).

#### 7.1.2 Amplification par PCR et séquençage

L'ADN a été amplifié par PCR en utilisant les amorces 8F\_v1f (5'-AGAGAGTTGATCMTGGGCTCAG-3') et 355R\_v2r (5'-GCWGCCTCCCGTAGGAGT-3'), qui ciblent les régions V1 et V2 du gène codant pour la sous-unité 16S de l'ARN ribosomal. Les fragments de 350 pb ainsi générés ont ensuite été séquencés sur le séquenceur S5 (Thermo Fisher Scientific).

#### 7.1.3 Traitement bio-informatique des résultats

Les résultats du séquençage ont été traités à l'aide du pipeline d'analyse développé par le groupe de recherche Ferments (04\_Pipelines/04\_16S\_pipeline\_S5\_V1V2.R, v. 1.0.3). Dans une première étape, les fragments d'ADN séquencés (*reads*) ont été filtrés selon des critères de qualité et les séquences d'amorces ont été supprimées à l'aide de l'outil cutadapt. Ensuite, les ASV (amplicon sequence variants) ont été définis à l'aide de l'outil DADA2. Les ASV sont des groupes de séquences présentant un degré élevé de similarité. Les ASV ont ensuite été filtrés par longueur afin d'éliminer les ASV anormalement courts et finalement attribués de façon taxonomique aux espèces en utilisant l'outil IDTAXA basé sur la base de données DAIRYdb v.1.2.4. Un tableau du nombre de lectures pour chaque espèce détectée dans chaque échantillon a ensuite été généré et les données ont été normalisées pour obtenir la densité de population relative (abondance) de chaque espèce dans chaque échantillon.

## 7.2 Composition du microbiome du Raclette du Valais AOP

L'expérience a montré que dans les aliments fermentés tels que le fromage, les espèces bactériennes ajoutées avec les cultures acidifiantes dominent la composition du microbiome. L'indication des abondances relatives est certes utile pour montrer la composition quantitative des microbiomes. Cependant, ce serait une erreur de supposer que seuls les principaux composants du microbiome de la pâte et de la croûte (abondance relative  $\geq 1,0$  %) exercent une influence sur la qualité du fromage. Par exemple, les bactéries propioniques, qui sont à l'origine de la formation de l'ouverture et de l'arôme caractéristiques de l'Emmentaler AOP, ne représentent qu'un composant mineur (abondance relative  $< 1$  %) dans le microbiome de la pâte de ce fromage. De même, dans les fromages très défectueux (par exemple, les fromages avec une fermentation butyrique ou les fromages avec une teneur très élevée en amines biogènes), les espèces responsables des défauts ne sont présentes que comme composants mineurs. Ces deux exemples illustrent bien le fait que des composants mineurs du microbiome de la pâte et de la croûte peuvent également avoir une influence décisive sur la qualité. Les tableaux et figures suivants contiennent donc toujours des informations détaillées sur les composants mineurs.

Un total de 46 espèces a été détecté dans la pâte des 21 Raclette du Valais AOP analysés (**tableau 16**). L'abondance relative de 34 espèces était  $< 1,0$  % dans tous les fromages examinés. Au total, 12 espèces ont été détectées, dont l'abondance relative était  $\geq 1,0$  % dans au moins un des 21 fromages examinés. Le microbiome de la croûte était beaucoup plus diversifié en termes d'espèces. Un total de 203 espèces a été détecté, dont 32 espèces étaient présentes dans au moins un des 21 fromages à une abondance relative  $\geq 1,0$  %. Les 171 autres espèces détectées représentaient des composants mineurs du microbiome de la croûte.

**Tableau 16:** Nombre d'espèces détectées dans la pâte et la croûte des 21 Raclette du Valais AOP examinés.

	Pâte du fromage (ADN)	Croûte (ADN)
Total des espèces	46	203
Espèces dont l'abondance relative est $\geq 1,0$ %.	12	32
Espèces dont l'abondance relative est $< 1,0$ %.	34	171

### 7.2.1 Le microbiome dans la pâte à fromage

Sur le total de 46 espèces détectées dans la pâte du fromage, 12 espèces n'étaient détectables qu'à l'état de traces dans l'un des 21 fromages testés, de sorte que leur présence peut être davantage attribuée au hasard. Les 34 espèces répertoriées dans le **tableau 17** étaient toutes présentes dans au moins deux des 21 fromages examinés et ont donc été considérés comme «composant typique» du microbiome de la pâte du Raclette du Valais. Des cultures de *Lactococcus lactis* (culture mésophile) et de *Streptococcus thermophilus* (culture thermophile) sont généralement utilisées dans la production du Raclette du Valais AOP. Il n'est donc pas surprenant que ces deux espèces aient eu une influence décisive sur la composition du microbiome de la pâte. Selon l'origine des fromages, l'abondance relative de ces deux espèces se situait ensemble entre 33 et 97% (moyenne  $79 \pm 19\%$ ). Avec *Lactobacillus delbrueckii* et *Lactobacillus helveticus*, deux autres espèces thermophiles du groupe des lactobacilles homofermentaires ont été détectées. *Lactobacillus delbrueckii* est un composant typique des cultures d'acidification thermophiles (par exemple CM 401) et *Lactobacillus helveticus* est parfois ajouté comme culture supplémentaire pour accélérer l'affinage. En plus, *Leuconostoc mesenteroides*, une espèce utilisée dans les cultures mixtes mésophiles pour favoriser la formation d'arômes, a été détectée. Dans certains fromages, l'abondance relative de ces trois espèces était très faible, ce qui indique que ces espèces peuvent également parvenir dans le microbiome de la pâte via le lait cru.

**Tableau 17:** Espèces caractéristiques du microbiome de la pâte du Raclette du Valais AOP, triées selon leur abondance relative moyenne.

Espèce (n=34)	Groupe <sup>a</sup>	Importance	Prévalence	Abondance relative (%)				
				Moyen	s <sub>x</sub>	Médiane	Min.	Max.
<i>Streptococcus thermophilus</i>	1	LAB (ac)	21	42,243	27,517	50,700	0,322	89,347
<i>Lactococcus lactis</i>	1	LAB (ac)	21	37,176	19,911	32,029	5,183	88,625
<i>Lactobacillus paracasei</i>	1	NSLAB +	21	6,343	8,884	2,347	0,017	34,023
<i>Lactobacillus pentosus</i>	1	NSLAB +	20	5,210	7,704	3,273	0,047	36,266
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1	NSLAB +	20	3,466	6,391	1,569	0,090	29,924
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	1	NSLAB -	20	2,679	6,115	0,542	0,003	27,114
<i>Lactobacillus sunkii</i>	-	NSLAB +/-	10	2,228	5,548	0,007	0,001	18,602
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	1	LAB (ac)	19	0,658	1,838	0,007	0,002	7,752
<i>Lactobacillus helveticus</i>	1	LAB (ac)	21	0,632	1,437	0,009	0,004	5,150
<i>Lactobacillus coryniformis</i>	1	NSLAB +	19	0,415	0,605	0,165	0,011	2,475
<i>Lactobacillus curvatus</i>	1	NSLAB -	19	0,263	0,294	0,188	0,009	1,089
<i>Lactobacillus brevis</i>	1	NSLAB -	16	0,262	0,528	0,050	0,001	1,938
<i>Lactobacillus nenjiangensis</i>	-	NSLAB +/-	8	0,143	0,185	0,062	0,014	0,610
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	1	LAB (ar)	14	0,128	0,141	0,098	0,004	0,515
<i>Lactobacillus sakei</i>	1	NSLAB +/-	12	0,098	0,115	0,059	0,008	0,378
<i>Lactobacillus buchneri</i>	1	NSLAB -	2	0,096	0,003	0,096	0,093	0,099
<i>Enterococcus malodoratus</i>	1	NSLAB -	2	0,093	0,063	0,093	0,030	0,155
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1	NSLAB +	13	0,052	0,130	0,002	0,000	0,495
<i>Lactobacillus crustorum</i>	-	NSLAB +/-	2	0,035	0,008	0,035	0,028	0,043
<i>Leuconostoc carnosum</i>	1	NSLAB +/-	3	0,033	0,014	0,042	0,013	0,044
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	1	NSLAB +	9	0,031	0,030	0,019	0,005	0,092
<i>Weissella paramesenteroides</i>	1	NSLAB +/-	6	0,025	0,028	0,013	0,002	0,085
<i>Lactobacillus fuchuensis</i>	-	NSLAB +/-	9	0,021	0,022	0,017	0,001	0,067
<i>Enterococcus gilvus</i>	-	NSLAB -	15	0,020	0,022	0,013	0,000	0,075
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	négatif	6	0,016	0,013	0,013	0,000	0,034
<i>Streptococcus uberis</i>	1	NSLAB +/-	11	0,010	0,010	0,004	0,000	0,036
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2	?	2	0,008	0,002	0,008	0,006	0,009
<i>Lactobacillus harbinensis</i>	-	NSLAB +/-	2	0,007	0,005	0,007	0,002	0,012
<i>Staphylococcus devriesei</i>	-	?	2	0,007	0,000	0,007	0,007	0,007
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	2	NSLAB +/-	3	0,003	0,001	0,003	0,002	0,004
<i>Aerococcus viridans</i>	2	?	2	0,003	0,002	0,003	0,001	0,004
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	NSLAB -	7	0,003	0,003	0,001	0,001	0,010
<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	1	Négatif	4	0,001	0,000	0,000	0,000	0,001
<i>Enterococcus faecium</i>	2	NSLAB -	2	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001

LAB Lactic acid bacteria (bactéries lactiques)

LAB (ac) LAB Starter, acidification

LAB (ar) LAB Starter, formation de l'arôme

NSLAB Non starter lactic acid bacteria (bactéries lactiques qui ne sont pas ajoutées en tant que culture starter)

NSLAB + NSLAB, auxquelles on attribue une influence principalement positive sur la qualité du fromage

NSLAB - NSLAB, auxquelles on attribue une influence principalement négative sur la qualité du fromage

NSLAB +/- NSLAB, dont l'influence sur la qualité du fromage n'est pas clairement établie

<sup>a</sup> Classification d'organismes selon l'OFEV/OFSP (Module 1: Bactéries, état janvier 2013)

Le microbiome de la pâte de la plupart des fromages contenait également quelques espèces de bactéries lactiques non starters (NSLAB) en abondance relative élevée ( $\geq 1\%$ ). Avec *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus* et *Lactobacillus coryniformis*, cinq espèces de lactobacilles hétérofermentaires facultatifs du groupe des NSLAB ont été détectées. Ces espèces fermentent normalement complètement les hexoses en lactate, mais en cas de manque de glucose, elles fermentent les hexoses en acide lactique, en acide acétique, en éthanol et en CO<sub>2</sub>. Les pentoses sont fermentés en lactate et acétate. Par ailleurs, avec *Lactobacillus parabuchneri*, *Lactobacillus brevis* et *Lactobacillus sunkii*, trois NSLAB hétérofermentaires obligatoires ont été détectés.

Le **tableau 18** montre l'abondance relative des différents groupes de bactéries dans le microbiome de la pâte du Raclette du Valais. Il en ressort que les espèces LAB ajoutées aux cultures couvrent en moyenne environ 80% du microbiome du fromage, tandis que la proportion d'espèces NSLAB est en moyenne d'environ 20%.

Les NSLAB sont un composant important du microbiome du fromage et contribuent, par leur activité métabolique, à la formation de composants aromatiques pendant l'affinage. Les fromages au lait cru ont généralement une odeur et un goût plus intenses, ce qui s'explique principalement par la présence de NSLAB. Les NSLAB parviennent dans les fromages à partir de leur habitat naturel (herbes, trayons, etc.) via le lait cru et via la transformation (par exemple, les biofilms dans les installations de production) et se développent en flore secondaire d'affinage avec l'autolyse des cultures starters. Le groupe des NSLAB représente un groupe très hétérogène de micro-organismes qui peuvent influencer la qualité du fromage non seulement positivement, mais aussi négativement. Les espèces de NSLAB présentes dans le fromage sont généralement bien adaptées aux conditions difficiles présentes dans le fromage (absence d'hydrates de carbone fermentescibles, pH bas, température basse, valeur  $a_w$  réduite, teneur en sel). La croissance des NSLAB est souvent favorisée par des propriétés métaboliques spécifiques à l'espèce et à la souche (par exemple, utilisation du citrate, catabolisme de l'arginine par la voie de l'arginine déiminase (ADI), formation d'amines biogènes). Avec *Lactobacillus parabuchneri*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus curvatus* et *Lactobacillus brevis*, quatre espèces de NSLAB ont été détectées, dont la présence dans le fromage s'accompagne souvent d'une augmentation des teneurs en amines biogènes.

**Tableau 18:** Abondance relative de divers groupes de bactéries dans la pâte du Raclette du Valais AOP

Groupe de bactéries	Nombre d'espèces	Abondance relative (%)				
		Valeur moyenne	s <sub>x</sub>	Médiane	Min.	Max.
LAB (ac, ar)	5	80,733	18,194	88,468	33,323	97,232
<i>Lactobacillus</i> spp. NSLAB +	6	15,027	13,571	9,161	1,983	46,950
<i>Lactobacillus</i> spp. NSLAB -	4	2,998	6,143	0,783	0,084	27,475
<i>Lactobacillus</i> spp. NSLAB +/-	16	1,270	4,135	0,093	0,009	19,014
<i>Enterococcus</i> spp. NSLAB -	4	0,030	0,042	0,013	0,000	0,171
<i>Staphylococcus</i> spp.	3	0,017	0,012	0,015	0,000	0,036
<i>Clostridiaceae</i> spp.	1	0,001	0,000	0,000	0,000	0,001
<i>Enterobacteriaceae</i>	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Propionibacterium</i> spp.	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. non détectable

LAB (ac, ar) Lactic acid bacteria (bactéries lactiques), ajoutées pour l'acidification ou la formation de l'arôme

NSLAB Non starter lactic acid bacteria (bactéries lactiques qui ne sont pas ajoutées en tant que culture starter)

NSLAB + NSLAB, auxquelles on attribue une influence principalement positive sur la qualité du fromage

NSLAB - NSLAB, auxquelles on attribue une influence principalement négative sur la qualité du fromage

NSLAB +/- NSLAB, dont l'influence sur la qualité du fromage n'est pas clairement établie

Avec *Enterococcus malodoratus*, *Enterococcus gilvus*, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*, quatre espèces de bactéries lactiques de la famille des *Enterococcaceae* ont été détectées. Les bactéries du genre *Enterococcus* sont des microorganismes ubiquitaires que l'on trouve principalement dans le tractus gastro-intestinal des humains et des animaux. En raison de leur grande tolérance à la chaleur et de leur capacité à survivre dans des conditions environnementales difficiles, ils peuvent servir d'indicateurs de la qualité hygiénique des aliments. L'importance des entérocoques pour la qualité du fromage est controversée. Les entérocoques appartiennent

également au groupe des NSLAB et sont utilisés aujourd'hui encore de manière occasionnelle dans les cultures pour la fabrication de sortes de fromage traditionnelles au lait cru. Diverses études montrent que les entérocoques, en tant que composant du microbiome, peuvent exercer une influence positive sur les propriétés organoleptiques du fromage. En raison de l'utilisation généralisée d'antibiotiques dans l'élevage animal, de nombreux isolats d'entérocoques présentent des résistances à divers antibiotiques, ce qui explique pourquoi leur présence dans les aliments fermentés est désormais évaluée de manière critique. Les produits laitiers contiennent principalement *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* (**tableau 17**), qui sont classés comme organismes du groupe 2 selon la liste de l'Office fédéral de l'environnement OFEV (2013). Ce groupe comprend des organismes dont la présence est liée à un faible risque pour la sécurité et la santé. La présence de ces deux espèces dans le fromage est également indésirable, car de nombreuses souches de ces deux espèces forment des amines biogènes. L'expérience montre que dans les fromages dont la teneur en tyramine est fortement élevée, les entérocoques sont souvent la cause de ce défaut et de la formation de lainures. En comparant des données de la littérature, il est remarquable que *Enterococcus gilvus* était l'espèce de ce genre la plus fréquemment détectée dans le microbiome de la pâte du Raclette du Valais.

Outre les entérocoques, trois espèces de staphylocoques ont également été détectées; il s'agit de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus* et *Staphylococcus devriesei* (organismes du groupe 2). Selon l'expérience, *Staphylococcus aureus* est présent dans environ un tiers des échantillons de lait cru (Jakob et Eugster, 2016). Une forte prolifération de *Staphylococcus aureus* dans les premières 24 heures après la fabrication du fromage est problématique du point de vue de la sécurité alimentaire, car cette espèce peut former des toxines thermostables lorsque le nombre de bactéries est  $> 10^5$  UFC/g. Une autre espèce indésirable a été détectée, *Clostridium tyrobutyricum*, qui est responsable de la fermentation butyrique dans les fromages.

Comme mentionné ci-dessus, un total de 12 espèces a été détecté dans les 21 fromages dont l'abondance relative était  $\geq 1,0$  % dans au moins un des 21 fromages examinés. Le **tableau 19** contient un résumé des propriétés métaboliques importantes de ces espèces. La forte abondance relative des quatre bactéries lactiques homofermentaires s'explique par leur utilisation comme culture de fabrication du Raclette du Valais. Les huit autres espèces sont des représentants du groupe des NSLAB, qui parviennent dans les fromages par le biais du lait cru ou de la transformation («flore d'exploitation»). À l'exception de *Lactobacillus sunkii* (présent dans 10 des 21 fromages), toutes les espèces répertoriées ont été détectées dans au moins 16 des 21 fromages. Peu d'informations ont été trouvées dans la littérature sur la présence et l'importance de *Lactobacillus sunkii* dans les fromages. La présence des 11 autres espèces dans le fromage est par contre bien documentée dans la littérature. Deux espèces de NSLAB ont été détectées, *Lactobacillus parabuchneri* et *Lactobacillus curvatus*, qui ont été isolées à plusieurs reprises dans des fromages fortement contaminés par des amines biogènes et qui présentent toutes deux une bonne thermorésistance. La capacité à former des amines biogènes est un trait spécifique à la souche chez les deux espèces. Les souches qui possèdent cette capacité ont un avantage de croissance sélective dans le fromage, car elles peuvent obtenir de l'énergie par le biais de ce métabolisme. La capacité à dégrader le citrate est également un trait spécifique à la souche chez de nombreuses espèces, ce qui favorise la croissance de ces souches citrate-positives. La formation d'amines biogènes et la dégradation du citrate entraînent toutes deux la libération de CO<sub>2</sub>. La formation de gaz par ces deux métabolismes influence également la formation de l'ouverture et la stabilité de stockage des fromages.

**Tableau 19:** Propriétés métaboliques et importance des espèces présentes dans le microbiome d'au moins un des 21 Raclettes du Valais analysés dans une abondance relative  $\geq 1\%$ .

Espèce	Fermentation lactique	Isomères du lactate	Dégradation du citrate	Formation d'AB (intensité / fréquence)	Importance pour la qualité du fromage
<i>Lactobacillus brev</i>	HO	DL	cit+	modérée / modérée (tyr, Put, his, PEA)	Composant mineur de la flore secondaire du cheddar et d'autres fromages
<i>Lactobacillus coryniformis</i>	HF	D(-)	cit-	modérée / modérée (his)	L'espèce fait souvent partie du microbiome des légumes fermentés et des ensilages; souches avec formation de bactériocines (reutérine); isolats du fromage Churpi (fromage au lait de yak), du fromage au lait de chèvre et isolats produisant de l'histamine issus de la Tête de Moine (FAM 23050).
<i>Lactobacillus curvatus</i>	HF	DL	cit-	modérée / forte (tyr, put, his)	Composant mineur de la flore secondaire des fromages affinés (par exemple, cheddar). Les souches productrices d'AB de cette espèce sont souvent aussi présentes dans les fromages dont la teneur en AB est fortement élevée.
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	H	D(-)	cit-	non prouvée	Composant des cultures fromagères, fermentation lactique (acidification finale), protéolyse
<i>Lactobacillus helveticus</i>	H	DL	cit-/cit+	non prouvée	Composant des cultures fromagères, fermentation lactique (acidification finale), protéolyse
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	HO	DL	cit-	fréquente / forte (His)	Espèce souvent présente dans les fromages avec une sensation désagréable de brûlure, principale cause des teneurs élevées en histamine dans les fromages
<i>Lactobacillus paracasei</i>	HF	DL	cit+/cit-	non prouvée	Formation de gaz (CO <sub>2</sub> ) / formation de l'ouverture par les souches cit+, effets antagonistes contre les entérocoques (concurrence alimentaire citrate) et les bactéries propioniques. Espèce présente dans la flore secondaire de divers fromages tels que le gruyère, le cheddar, etc.
<i>Lactobacillus pentosus</i>	HF	DL	cit+/cit-	non prouvée	Espèce isolée de plantes, de saumure d'olives, de lait ainsi que de L'Etivaz, feta traditionnelle, fromage de brebis Fiore Sardo et fromage à pâte molle Serpa. Renforcement de l'arôme par la formation d'acétate et de succinate lors de la dégradation du citrate.
<i>Lactobacillus plantarum</i>	HF	DL	cit+/cit-	modérée / modérée (Put, Cad, His)	Formation de diacétyl et d'acétoïne à partir du citrate. Certaines souches peuvent dégrader la putrescine et la tyramine. Favorise la protéolyse secondaire dans le fromage. Composant fréquent de la flore secondaire du cheddar.
<i>Lactobacillus sunkii</i>	HO	DL	?	non prouvée	Espèce isolée du sunki, une préparation à base de légumes traditionnelle japonaise composée de feuilles de betterave fermentées et vinaigrées. Aucune donnée sur la présence dans le fromage n'est disponible dans la littérature.
<i>Lactococcus lactis</i>	H	L(+)	cit+/cit-	non prouvée	Composant des cultures fromagères, fermentation lactique, formation de diacétyl, d'acétoïne et de CO <sub>2</sub> , formation de l'ouverture
<i>Streptococcus thermophilus</i>	H	L(+)	cit-	très rare (his)	Composant des cultures fromagères, fermentation lactique (acidification initiale rapide)

H = homofermentaire ; HF = hétérofermentaire facultatif ; HO = hétérofermentaire obligatoire.

cit+ = souches positives au citrate (dégradent le citrate); cit- = souches négatives au citrate (ne peuvent pas fermenter le citrate).

AB = Amines biogènes; cad = cadavérine; put = putrescine; his = histamine; PEA = 2-phényléthylamine; tyr = tyramine.

## 7.2.2 Microbiome de la croûte

Comme le montre le **tableau 16**, un total de 203 espèces bactériennes a été détecté dans la croûte des Raclettes du Valais AOP examinés. Parmi celles-ci, 34 espèces ont été détectées dans la croûte de tous les fromages, 94 espèces dans la croûte de plus de la moitié des fromages, 156 espèces dans la croûte d'au moins deux des fromages et 47 autres espèces ont été détectées dans un seul des fromages. Ces données montrent que le microbiome de la croûte des fromages emmorgés a une composition très complexe et riche en espèces. Les 32 espèces énumérées dans le **tableau 20** étaient présentes dans au moins un des 21 fromages analysés à une abondance relative  $\geq 1\%$ . Ensemble, elles couvraient en moyenne  $96 \pm 1\%$  du microbiome de la croûte (minimum 92%, maximum 98%).

**Tableau 20:** Espèces caractéristiques du microbiome de la croûte du Raclette du Valais AOP, selon leur abondance relative moyenne.

Espèce (n=32)	Phylum	Prévalence	Abondance relative (%)				
			Moyen	s <sub>x</sub>	Médiane	Min.	Max.
<i>Corynebacterium casei</i>	Actinobactéries	21	24,757	9,485	24,344	9,162	47,137
<i>Halomonas variabilis</i>	Protéobactéries	21	13,369	9,801	11,725	0,252	32,339
<i>Sphingobacterium lactis</i>	Bacteroidetes	21	10,833	6,865	9,800	0,224	27,711
<i>Brevibacterium aurantiacum</i>	Actinobactéries	21	5,699	2,414	4,785	2,690	10,438
<i>Psychrobacter celer</i>	Protéobactéries	21	5,001	5,987	3,262	0,143	29,300
<i>Sphingobacterium alimentarium</i>	Bacteroidetes	21	4,990	3,934	5,454	0,032	12,885
<i>Corynebacterium variabile</i>	Actinobactéries	21	4,760	3,985	3,340	0,469	16,175
<i>Marinilactibacillus psychrotolerans</i>	Firmicutes	21	4,447	3,778	3,746	0,958	18,530
Espèce <i>Corynebacterium</i>	Actinobactéries	21	3,932	3,486	3,658	0,034	13,352
<i>Facklamia tabacinasalis</i>	Firmicutes	21	3,866	3,587	3,013	0,323	15,519
<i>Halomonas alkaliphila</i>	Protéobactéries	21	2,821	3,663	1,051	0,001	15,388
Espèces de <i>Clostridialibacter</i>	Firmicutes	21	2,703	3,168	1,381	0,004	13,705
Espèce <i>Alkalibacterium G4</i>	Firmicutes	21	1,234	1,312	0,886	0,045	4,795
<i>Anaerosphaera aminiphila</i>	Firmicutes	19	1,039	1,830	0,127	0,008	5,743
<i>Corynebacterium terpenotabidum</i>	Actinobactéries	21	0,831	0,548	0,641	0,081	2,188
<i>Marinobacter Species ZS2-30</i>	Protéobactéries	21	0,793	2,392	0,201	0,005	11,418
<i>Peptoniphilus stercorisuis</i>	Firmicutes	16	0,730	2,404	0,004	0,001	10,014
<i>Brevibacterium senegalense</i>	Actinobactéries	21	0,683	0,405	0,661	0,251	1,784
<i>Peptostreptococcus russellii</i>	Firmicutes	17	0,635	1,265	0,016	0,000	4,264
<i>Vagococcus fluvialis</i>	Firmicutes	21	0,409	0,334	0,312	0,001	1,092
<i>Enterococcus devriesei</i>	Firmicutes	21	0,367	0,440	0,228	0,010	1,718
<i>Enterococcus pseudoavium</i>	Firmicutes	20	0,365	0,352	0,265	0,013	1,421
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Firmicutes	16	0,361	0,473	0,139	0,001	1,749
<i>Staphylococcus equorum</i>	Firmicutes	12	0,349	0,332	0,233	0,101	1,399
<i>Microbacterium trichothecenolyticum</i>	Actinobactéries	21	0,312	0,289	0,256	0,057	1,489
<i>Sphingobacterium gobiense</i>	Bacteroidetes	21	0,311	0,412	0,126	0,001	1,696
Espèce <i>Actinomycetaceae</i>	Actinobactéries	19	0,248	0,398	0,040	0,000	1,650
<i>Microbacterium imperiale</i>	Actinobactéries	19	0,246	0,285	0,108	0,005	1,192
<i>Lactococcus lactis</i>	Firmicutes	17	0,209	0,259	0,102	0,003	1,044
<i>Lactobacillus curvatus</i>	Firmicutes	20	0,196	0,276	0,062	0,003	1,009
<i>Peptoniphilus coxii</i>	Firmicutes	14	0,173	0,420	0,037	0,000	1,665
<i>bavariococcus seileri</i>	Firmicutes	19	0,096	0,305	0,017	0,001	1,385

En plus des bactéries, des levures et des moisissures font également partie du microbiome de la croûte, mais la méthode utilisée ne permet pas de les détecter. Le microbiome bactérien de la croûte n'a montré qu'un léger chevauchement avec le microbiome de la pâte avec *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* et *Lactobacillus curvatus*. La présence de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactococcus lactis* peut s'expliquer par le fait que ces deux espèces étaient très majoritairement représentées dans la pâte des fromages et que les analyses du microbiome ont également enregistré l'ADN des cellules mortes. La croissance de ces deux bactéries lactiques homofermentaires dans la croûte du fromage est plutôt improbable.

Les espèces bactériennes présentes dans la croûte du Raclette du Valais appartiennent à quatre phylums: Actinobacteria, Proteobacteria, Firmicutes et Bacteroidetes. Les actinobactéries étaient les plus abondantes (41,5%), en particulier les espèces communes qui colonisent la surface du fromage, telles que *Corynebacterium* spp., *Brevibacterium* spp. et *Microbacterium* spp. Ces espèces sont connues pour contribuer à l'arôme du fromage et/ou à la couleur de la croûte. D'autres actinobactéries communes telles que *Brachybacterium* spp. semblent jouer un rôle mineur dans la croûte du Raclette du Valais. Le deuxième phylum le plus abondant était les protéobactéries (22,0%) avec *Halomonas* spp. et *Psychrobacter celer*. Au cours des 10 dernières années, ces espèces ont été identifiées à l'aide de méthodes indépendantes de la culture comme une partie essentielle du microbiome de la croûte (Irlinger *et al.*, 2012, Wolfe *et al.*, 2014, Dugat-Bony *et al.*, 2016, Quijada *et al.*, 2018). Leur rôle exact dans l'affinage a été encore peu exploré. Les Firmicutes (17,2%) étaient le troisième phylum le plus abondant. Il s'agissait notamment d'espèces anaérobies facultatives halophiles et alcaliphiles (FAHA) telles que *Marinilactibacillus psychrotolerans*. Leur rôle dans la protection contre les listerias dans la croûte du fromage à raclette a été étudié chez Agroscope (Roth, 2011). Les espèces de bactéries anaérobies telles qu'*Anaerosphaera aminiphila* étaient également bien représentées. Leur forte abondance relative est inattendue et leur rôle encore inconnu. Les bactéries lactiques associées à la croûte (*Vagococcus fluvialis*, *Enterococcus* spp., *Lactobacillus curvatus* et *Bavariicoccus seileri*) et les staphylocoques à coagulase négative étaient également présents en petit nombre. Parmi les Bacteroidetes (16,1%), les *Sphingobacterium* spp. étaient présentes dans des abondances relatives étonnamment élevées. Ces espèces proviennent probablement du lait cru utilisé pour la fabrication du Raclette du Valais (Hantsis-Zacharov, 2007) et ont déjà été détectées dans la croûte de fromages au lait cru longuement affinés (Quijada *et al.*, 2018). Grâce à leurs propriétés lipolytiques, ils pourraient contribuer à l'arôme du fromage (Hantsis-Zacharov, 2007).

La composition du microbiome de la croûte du Raclette du Valais dépend des conditions d'affinage ainsi que des interactions entre les différents microorganismes. *Corynebacterium* et *Psychrobacter* spp. ainsi que la moisissure *Fusarium* sont associés à la croûte des fromages emmorgés. La présence de *Fusarium* est également associée positivement à *Corynebacterium* spp, *Sphingobacterium* spp et *Halomonas* spp (Wolfe *et al.*, 2014).

### 7.2.3 Différences spécifiques à l'exploitation dans le microbiome de la pâte et de la croûte

Le Raclette du Valais AOP est fabriqué à partir de lait de vache cru. Le chauffage et le brassage du caillé sont effectués à des températures comprises entre 36 et 45°C, de sorte qu'il n'y a qu'une faible inactivation due à la chaleur des microorganismes thermosensibles. La composition du microbiome de la pâte du Raclette du Valais AOP est principalement influencée par les cultures ajoutées, le microbiome du lait cru transformé et les influences spécifiques à l'exploitation («flore d'exploitation»). Le **tableau 21** contient des données quantitatives sur la composition spécifique à l'exploitation du microbiome de la pâte et de la croûte. En moyenne,  $18 \pm 4$  espèces ont été détectées dans le microbiome de la pâte des 21 fromages examinés, dont  $5 \pm 1$  espèces étaient présentes dans une abondance relative  $> 1,0\%$ . Les différences dans la diversité des espèces entre les 21 fromageries étaient considérables. Le fromage n° 4 présentait la plus grande diversité d'espèces avec 27 espèces détectées. Avec un total de 8 espèces, le fromage n° 10 présentait une diversité d'espèces étonnamment faible par rapport aux fromages de toutes les autres fromageries.

En moyenne,  $92 \pm 11$  espèces différentes ont été trouvées dans le microbiome de la croûte des 21 fromages analysés, dont  $12 \pm 2$  des espèces détectées étaient présentes dans une abondance relative  $\geq 1\%$  (minimum 8 espèces, maximum 16 espèces). La croûte du fromage de l'exploitation n° 9 présentait la plus grande diversité d'espèces avec 119 espèces, tandis que le fromage de l'exploitation n° 10 présentait une diversité d'espèces nettement inférieure avec seulement 72 espèces.

**Tableau 21:** Nombre d'espèces détectées dans la pâte du fromage (ADN) et la croûte des 21 Raclette du Valais AOP analysés produits dans différentes fromageries (jaune = valeurs maximales, rouge = valeurs minimales)

N° du fromage		Valeur moyenne	s <sub>x</sub>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Total des espèces détectées	Pâte (ADN)	18	4	18	19	22	27	19	18	14	14	16	8	20	20	17	21	17	17	14	15	21	17	21
Nombre d'espèces > 1.0%		5	1	4	6	6	7	7	4	8	3	5	5	7	3	5	5	3	6	4	4	6	4	6
Nombre d'espèces < 1.0%		13	4	14	13	16	20	12	14	6	11	11	3	13	17	12	16	14	11	10	11	15	13	15
Total des espèces détectées	Croûte (ADN)	92	11	78	98	96	82	102	99	101	87	119	72	91	92	91	88	89	85	91	113	89	76	98
Nombre d'espèces > 1.0%		12	2	11	8	12	15	12	10	13	16	15	12	12	14	12	11	9	10	14	13	12	11	15
Nombre d'espèces < 1.0%		80	11	67	90	84	67	90	89	88	71	104	60	79	78	79	77	80	75	77	100	77	65	83

La **figure 9** montre les différences spécifiques aux fromageries dans la composition du microbiome de la pâte. Le graphique permet de conclure que dans pratiquement toutes les fromageries, une combinaison de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactococcus lactis* a été utilisée comme culture d'acidification. Ce n'est que dans le fromage de l'exploitation 10 que l'abondance relative de *Streptococcus thermophilus* était très faible (0,3%). Dans certains fromages, des abondances relatives élevées des deux espèces homofermentaires *Lactobacillus delbrueckii* (fromages 7, 10, 21) et *Lactobacillus helveticus* (7, 10, 18 et 21) ont également été constatées. Des informations spécifiques aux exploitations ont révélé que, en plus de *Streptococcus thermophilus* et *Lactococcus lactis*, ces fromageries utilisaient également une culture mixte thermophile composée de *Lactobacillus helveticus* et de *Lactobacillus delbrueckii*. Dans le fromage de l'exploitation n° 4, qui présentait la plus grande diversité d'espèces, l'abondance relative des bactéries lactiques homofermentaires ajoutées par les cultures était étonnamment faible, avec 33% (moyenne  $81 \pm 18\%$ ). Dans le groupe des NSLAB, différentes espèces ont dominé la composition selon l'origine des fromages. Le fromage n° 4 présentait une abondance relative très élevée de *Lactobacillus pentosus* et de *Lactobacillus sunkii*; dans le fromage n° 7, *Lactobacillus plantarum* était fortement représenté, les fromages n° 11 et 20 contenaient des proportions élevées de *Lactobacillus paracasei* et dans le fromage n° 16, *Lactobacillus parabuchneri* était l'espèce NSLAB dominante. Ces exemples illustrent de manière très impressionnante que, en plus de nombreuses similitudes, les 21 fromages étudiés présentaient également des différences majeures dans la composition du microbiome de la pâte propres à chaque exploitation, ce qui vraisemblablement a aussi eu une influence sur les propriétés organoleptiques des fromages.

La **figure 10** montre les différences spécifiques aux fromageries dans la composition bactérienne du microbiome de la croûte. Les 14 espèces considérées couvraient entre 75 et 94% du microbiome bactérien, selon l'origine des fromages (moyenne  $89 \pm 5\%$ ). A l'exception d'*Anaerosphaera aminiphila*, les 14 espèces de bactéries étaient présentes dans tous les échantillons de croûte. La comparaison des 21 fromages montre que les microbiomes bactériens de la croûte des 21 fromages ont beaucoup de points communs. Par exemple, les espèces bactériennes *Corynebacterium*, *Halomonas*, *Sphingobacterium* et *Brevibacterium* étaient présentes dans une abondance relative élevée dans la croûte de presque tous les fromages. Outre les nombreuses similitudes, il existait également des particularités propres à chaque exploitation: dans la croûte des fromages n° 7, 9 et 17, d'autres espèces ont en plus été trouvées dans une abondance relative > 1%. Dans la croûte du fromage n° 7, des espèces de *Marinobacter* étaient particulièrement bien représentées avec une abondance relative de plus de 11%. La croûte du fromage n° 9 contenait en outre *Peptostreptococcus russellii*, *Enterococcus devriesei* et *Peptoniphilus coxii* dans une abondance relative  $\geq 1\%$  et dans la croûte du fromage n° 17, l'espèce *Peptoniphilus stercorisuis* était présente dans une abondance relative étonnamment élevée de 10%. Ces trois exemples montrent qu'en plus des 14 espèces considérées dans la **figure 10**, d'autres espèces peuvent également représenter, selon la fromagerie, une composante importante du microbiome de la croûte.

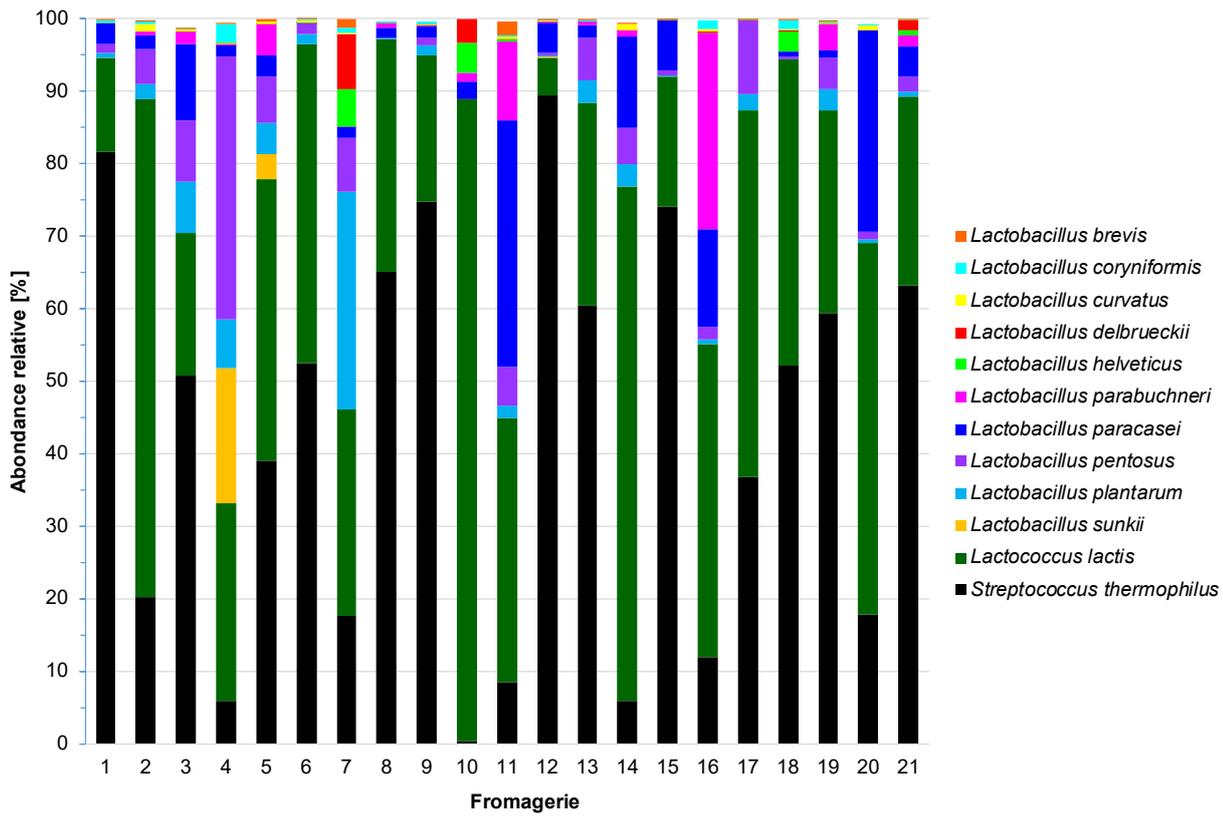


Figure 9: Comparaison de la composition du microbiome de la pâte du Raclette du Valais AOP provenant de 21 fromageries différentes (Seules les 12 espèces dont l'abondance relative était ≥ 1 % dans au moins un des 21 fromages analysés ont été considérées dans le graphique).

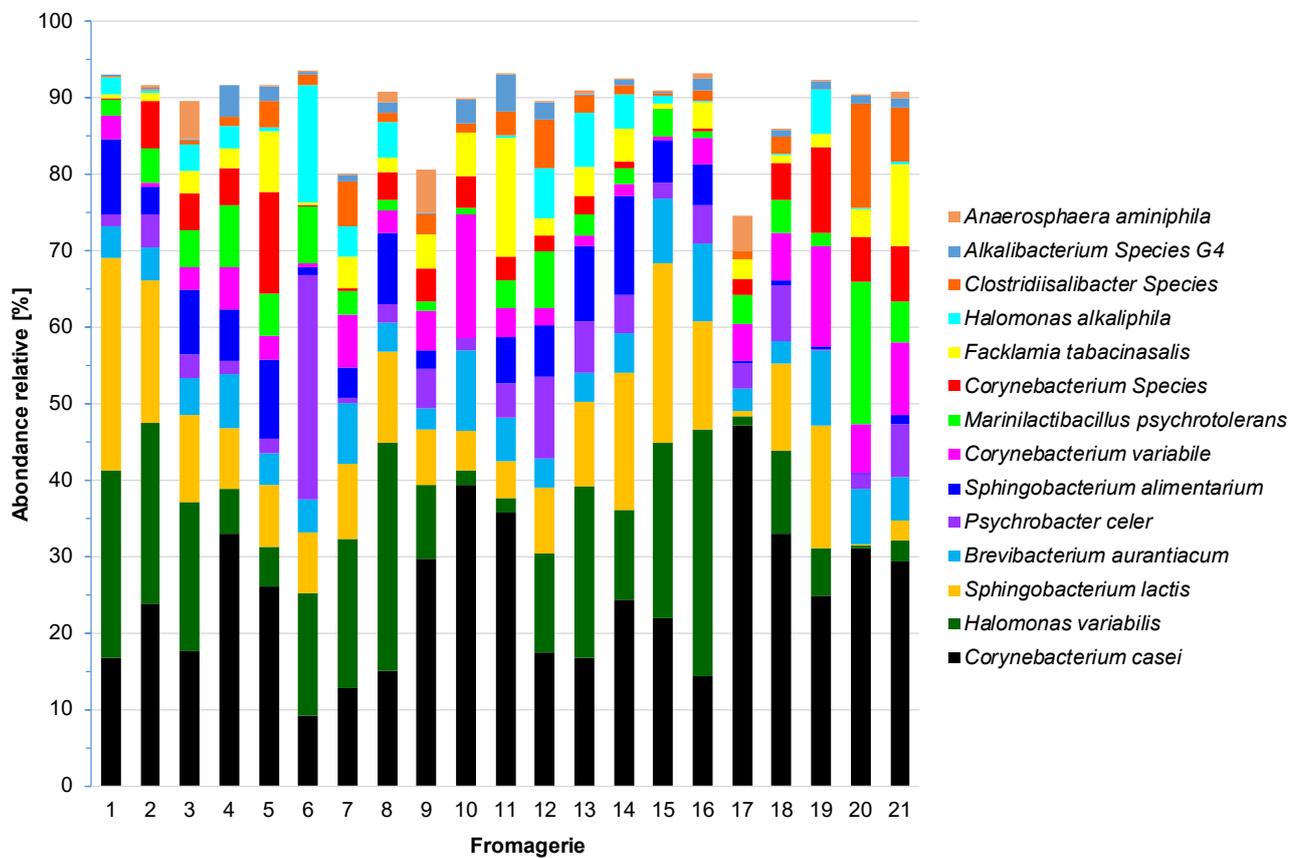


Figure 10: Comparaison de la composition du microbiome de la croûte des Raclette du Valais AOP analysés provenant de 21 fromageries différentes (Seules les 14 espèces dont l'abondance relative moyenne était ≥ 1% ont été considérées dans le graphique).

## 8 Bibliographie

- Ascone P., Maurer J., Haldemann J., Irmeler S., Berthoud H., Portmann R., Fröhlich-Wyder M.-T., Wechsler D. (2017). Prevalence and diversity of histamine-forming *Lactobacillus parabuchneri* strains in raw milk and cheese - a case study. *International Dairy Journal*, 70, 26-33.  
<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.11.012>
- Collomb M., Spahni-Rey M., & Steiger G. (1990). Dosage de la teneur en azote selon Kjeldahl de produits laitiers et de certaines de leurs fractions azotées à l'aide d'un système automatisé. *Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène*, 81, 499–509.
- Dugat-Bony, E.; Garnier, L.; Denonfoux, J.; Ferreira, S.; Sarthou, A.S.; Bonnarme, P.; Irlinger, F. (2016). Highlighting the microbial diversity of 12 French cheese varieties. *International Journal of Food Microbiology* 238, 265-273. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.09.026>
- Egger L., Ménard O., Abbühl L., Duerr D., Stoffers H., Berthoud H., Meola M., Badertscher R., Blaser C., Dupont D., Portmann, R. (2021). Higher microbial diversity in raw than in pasteurized milk Raclette-type cheese enhances peptide and metabolite diversity after *in vitro* digestion. *Food Chemistry*, 340, 128154. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128154>
- Fröhlich-Wyder M. T. (2003). *Der Appenzeller und seine Charakterisierung*. Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, IB 4/2003.
- Fröhlich-Wyder M. T., Guggisberg D., Badertscher R., Wechsler D., Wittwer A., Irmeler S. (2013). The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus parabuchneri* on the eye formation of semi-hard cheese. *International Dairy Journal*, 33, 120-128. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.03.004>
- Guggisberg D., Bütikofer U., Albrecht B. (2007). Melting and solidification characteristics of Swiss Raclette cheese measured by small amplitude oscillatory shear measurements. *Journal of Texture Studies* 38, 297-323.  
<https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2007.00099.x>
- Hantsis-Zacharov E., Halpern M. (2007). Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Applied and Environmental Microbiology*, 73 (22): 7162-7168 doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.00866-07>
- IDF (2004). Cheese and processed cheese – determination of the total solids content (reference method). IDF Standard 4. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- IDF (2006). Cheese and processed cheese products – determination of chloride content – potentiometric titration method. IDF Standard 88. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- Irlinger, F., S.A.Y. I. Yung, A.-S. Sarthou, C. Delbes-Paus, M.-C. Montel, E. Coton, M. Coton, and S. Helinck. (2012). Ecological and aromatic impact of two Gram-negative bacteria (*Psychrobacter celer* and *Hafnia alvei*) inoculated as part of the whole microbial community of an experimental smear soft cheese. *International Journal of Food Microbiology* 153:332-338  
 doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.11.022>
- Irlinger, F.; Layec, S.; Hélinck, S.; Dugat-Bony, E. (2014). Cheese rind microbial communities: Diversity, composition and origin. *FEMS Microbiology Letters*, 362, 1–11.  
 doi: <https://doi.org/10.1093/femsle/fnu015>
- ISO (2002a). Milk fat. Preparation of fatty acid methyl esters. ISO 15884:2002 (IDF 182: 2002). Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO (2002b). Milk fat – Determination of the fatty acid composition by gas – liquid chromatography. ISO 15885:2002 (IDF 184:2002). Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO (1975). Cheese – determination of fat content – van gulik method. ISO standard 3433. Geneva, Switzerland: International Organisation for Standardisation.

- ISO (2006). Cheese – Determination of rheological properties by uniaxial compression at constant displacement rate. ISO 17996:2006 (IDF 205:2006). Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO. (2007a). Milk – Determination of nitrogen content – Part 3: Block-digestion method (semi-micro rapid routine method). ISO 8968-3:2007 (IDF 20-3:2007). Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO. (2007b). Milk and milk products – Determination of calcium, sodium, potassium and magnesium contents – Atomic absorption spectrometric method. ISO 8070: 2007 (IDF 119:2007). Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- Jakob E., Eugster E. (2016). Sécurité alimentaire du fromage: procédés de traitement du lait de fromagerie Recherche Agronomique Suisse 7 (11–12): 476-483.
- Lavanchy P., Sieber R. (1993). Proteolyse in verschiedenen Hart- und Halbhartkäse: 1. Freie Aminosäuren. Schweiz. Milchw. Forsch. 22 (4), 59-64.
- Meola M., Rifa E., Shani N., Delbès C., Berthoud H., Chassard C. (2019). DAIRYdb: a manually curated reference database for improved taxonomy annotation of 16S rRNA gene sequences from dairy products. BMC Genomics 20, 560. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5914-8>
- Quijada, N.M.; Mann, E.; Wagner, M.; Rodríguez-Lázaro, D.; Hernández, M.; Schmitz-Esser, S. (2018). Autochthonous facility-specific microbiota dominates washed-rind Austrian hard cheese surfaces and its production environment. International Journal of Food Microbiology, 267, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.025>
- Roth E., Miescher Schwenninger S., Eugster-Meier E., Lacroix, C. (2011). Facultative anaerobic halophilic and alkaliphilic bacteria isolated from a natural smear ecosystem inhibit *Listeria* growth in early ripening stages. International Journal of Food Microbiology, 147: 26–32. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.032>
- Wenzel C., Irmeler S., Bisig W., Guggisberg D., Roetschi A., Portmann R., Wechsler, D., Froehlich-Wyder M.-T. (2018). The effect of starters with a functional arginine deiminase pathway on cheese ripening and quality. International Dairy Journal 85, 191-200. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.05.008>
- Wolfe, B.E.; Button, J.E.; Santarelli, M.; Dutton, R.J. (2014). Cheese rind communities provide tractable systems for *in situ* and *in vitro* studies of microbial diversity. Cell, 158, 422–433. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.05.041>