



*Un nouveau regard sur les écosystèmes laitiers et fromagers :
Adaptation, développement et appropriations des méthodes omiques
à des fins d'écologie microbienne*

Action 2 : Tester des démarches méthodologiques
autour de l'ADN via l'application à des cas terrains

Synthèse des résultats

Cas terrain : Bleu d'Auvergne





Objectif

Mieux comprendre l'origine des défauts d'amertume excessive dans les fromages à pâte persillée



Questionnement

Les interactions entre micro-organismes ensemencés et la composition biochimique des laits de fabrication jouent-elles un rôle dans l'amertume excessive des bleu d'Auvergne ?

Démarche

- Étudier des lots de fromages Bleu d'Auvergne (BA) jugés « amers » et des lots jugés « non amers » afin d'évaluer des liens potentiels avec :
- la composition des populations microbiennes des fromages
 - la composition biochimique des laits et des fromages
 - les paramètres technologiques

Matériels et méthodes



Dispositif expérimental

1 seul atelier de fabrication
Fromages au lait pasteurisé avec ferments



2 niveaux
d'amertume

- « trop amer » = TA
- « peu amer » = PA



2 stades de
conservation

- 30 jours
- 60 jours



5 lots - 3 BA par lot



**5 lots x 2 stades x 2 niveaux
d'amertume x 3 fromages = 60 BA**

**2 niveaux d'amertume x 5 lots
de BA = 10 laits**



Dispositif expérimental

Maturation du lait

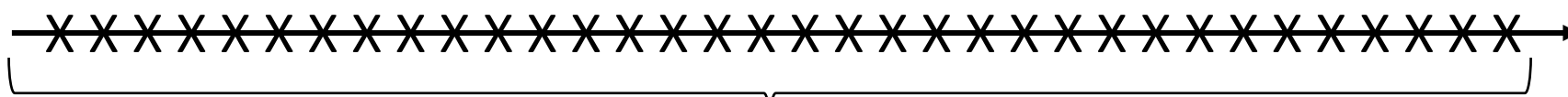
Fabrications (fromages mis de côté sur une période de 1 mois)

Congélation d'échantillons des laits
Relevés des paramètres technologiques

Analyses biochimiques a posteriori des laits correspondants

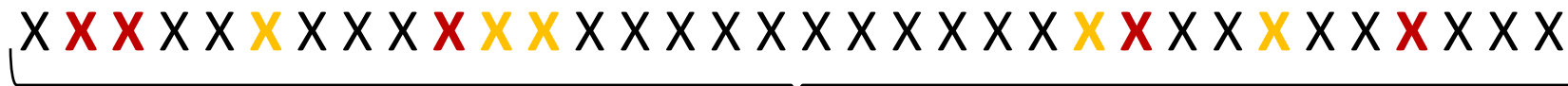


Fromages à T0

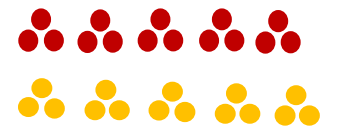
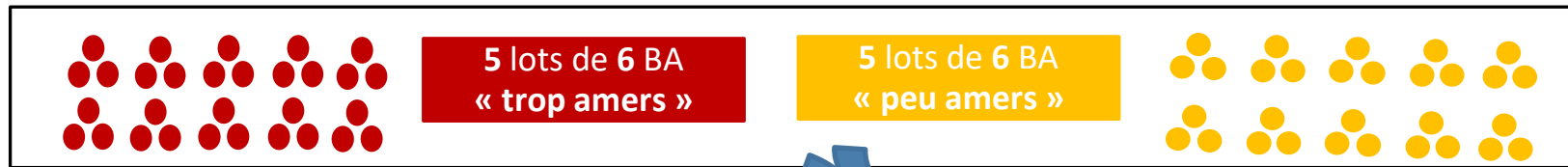


Fromages à T30

Evaluation sensorielle → classement trop amer/peu amer et constitution de 10 lots :

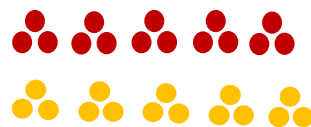


Conservation

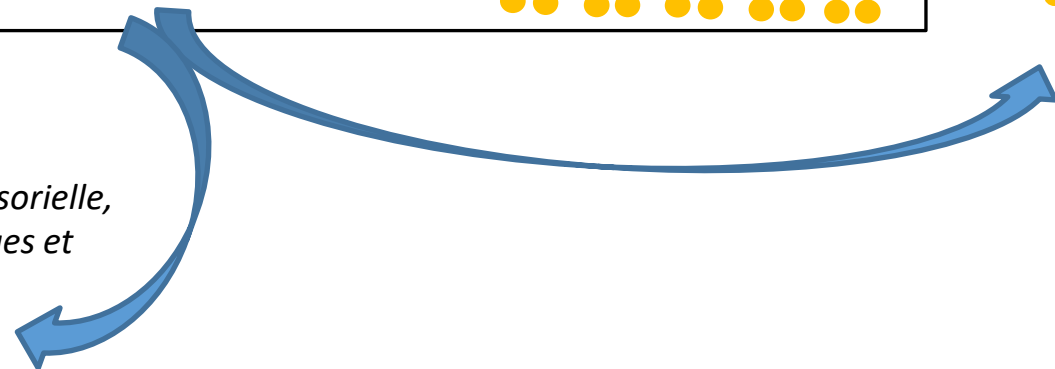


3 BA/lot → Analyses microbiologiques, biochimiques

Fromages à T60




3 BA/lot → Evaluation sensorielle, Analyses microbiologiques et biochimiques



Analyse réalisées

Évaluation sensorielle de l'amertume




qualité organoleptique des fromages



composition physico-chimique des laits

MP, MG, urée, MAT, MAS, MANP, Caséines, activité enzymatique

MG, MS, Gras sur sec
Chlorures
MAT, MAS, MANP, caséines



composition physico-chimique des fromages



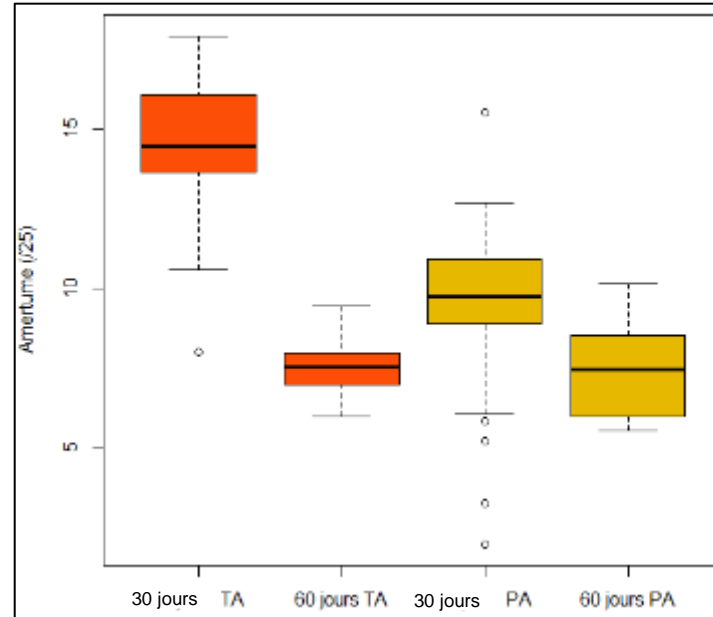
microbiotes des fromages

Metabarcoding 16S (ADN)
Séquençage métagénome (ADN)
Séquençage métatranscriptome (ARN)

Résultats

**Caractéristiques
physico-chimiques
et sensorielles des
fromages**

Niveau d'amertume dans les bleus

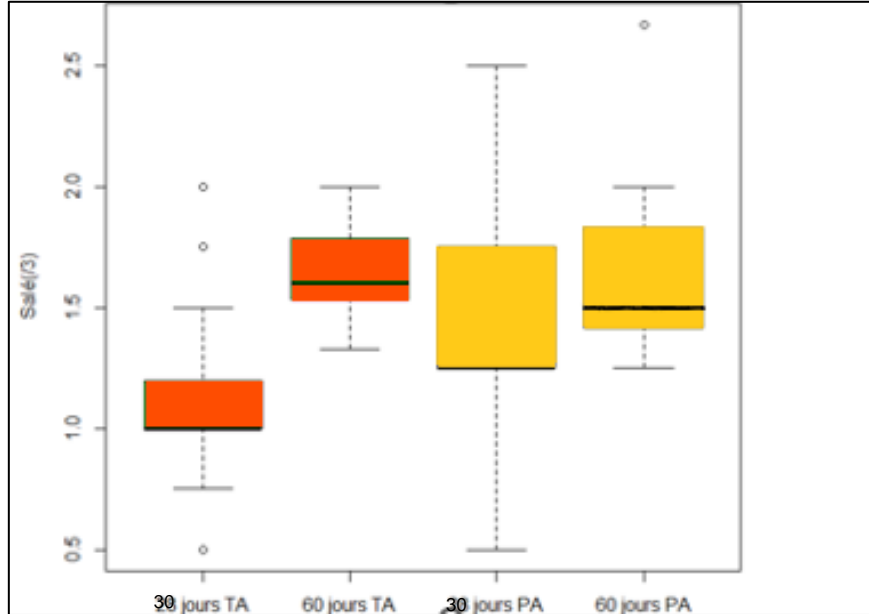


Abaissement de l'amertume perçue pour les **TA**

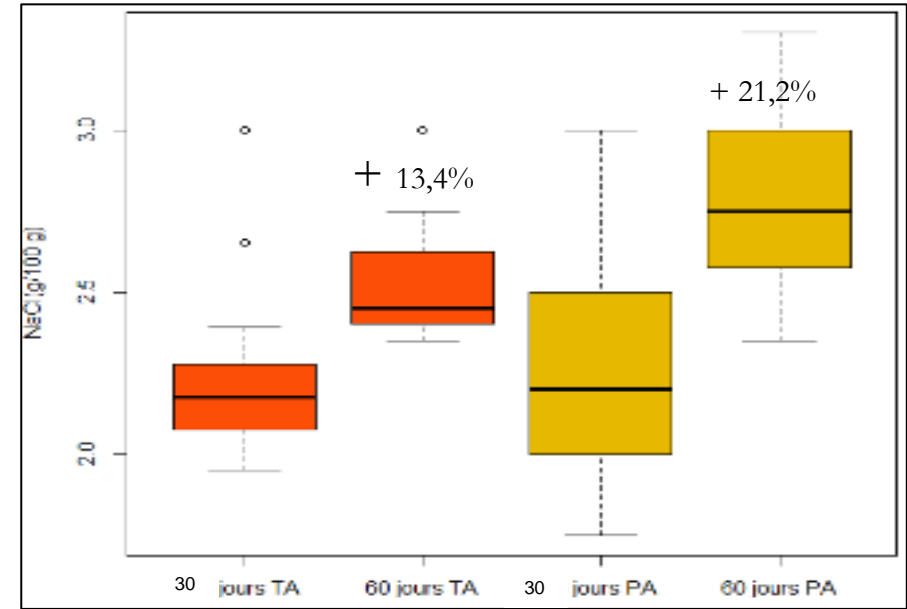
Absence de distinction sensorielle à 60 jours entre les catégories **TA** et **PA** à part pour la texture en bouche (plus *fondante* chez les **TA**).

Évolution sensorielle & physico-chimique des BA de 30 à 60 jours

Saveur salée



Teneur en sel



A 30 jours : goût salé perçu **TA**<**PA**

A 60 jours : teneur en sel **TA**<**PA** et goût salé perçu **TA**<**PA**

Augmentation de la teneur en sel et de l'intensité de la saveur salée plus importante chez les **PA**

Répartition du sel dans le Bleu d'Auvergne pourrait différer entre les **TA** et les **PA** à 30 jours

PA : BA « Peu Amer »

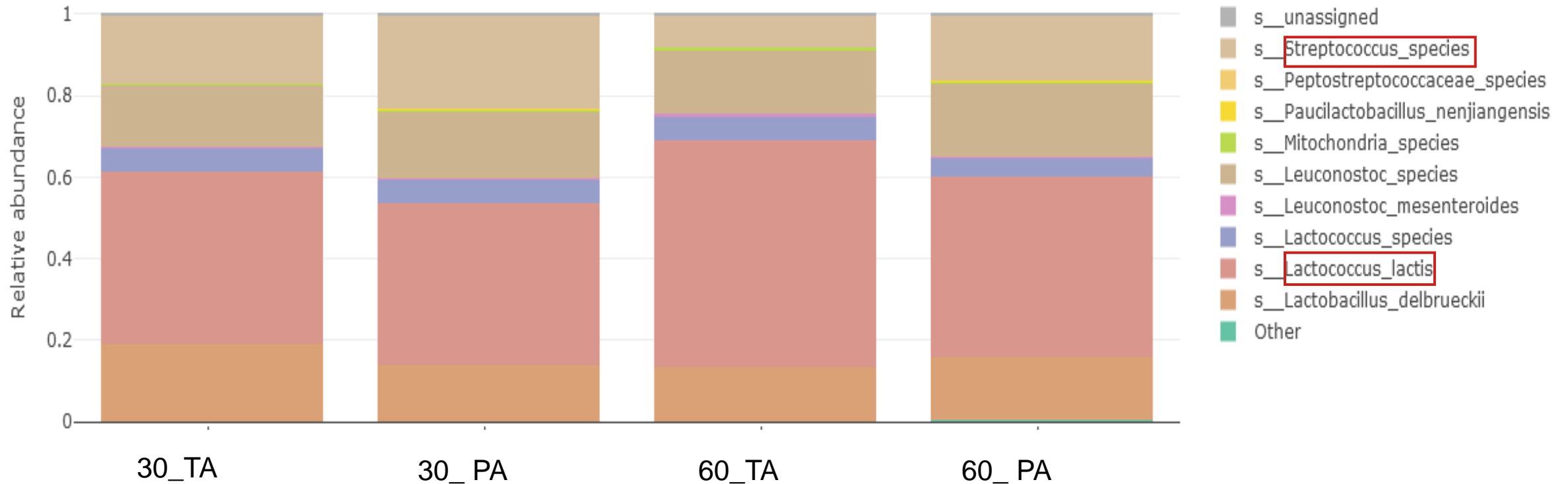
TA : BA « Trop Amer »

Résultats

**Microbiologie
des fromages**

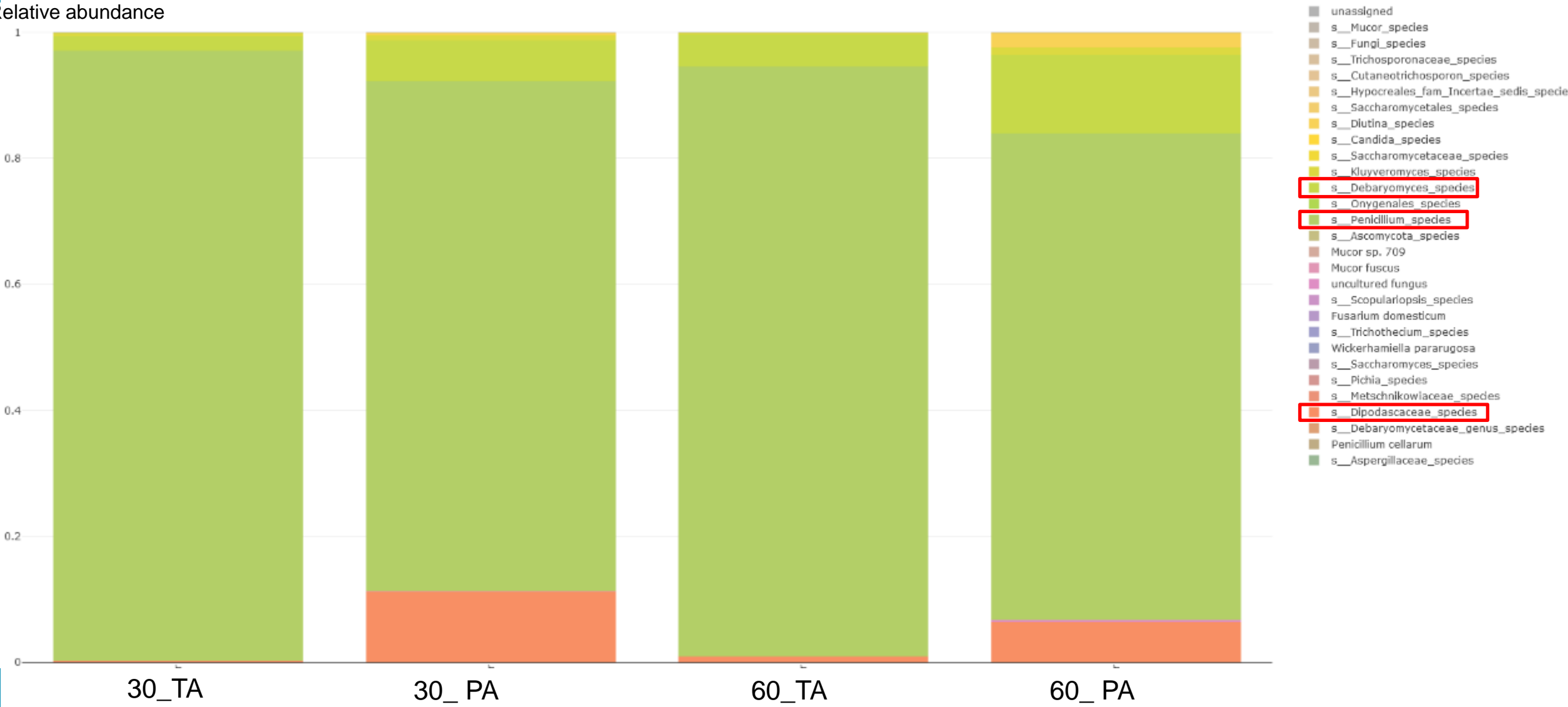
Composition bactérienne des fromages (16S) selon le temps d'affinage et le niveau d'amertume

Relative abundance



Composition fongique des fromages (ITS) selon le temps d'affinage et le niveau d'amertume

Relative abundance

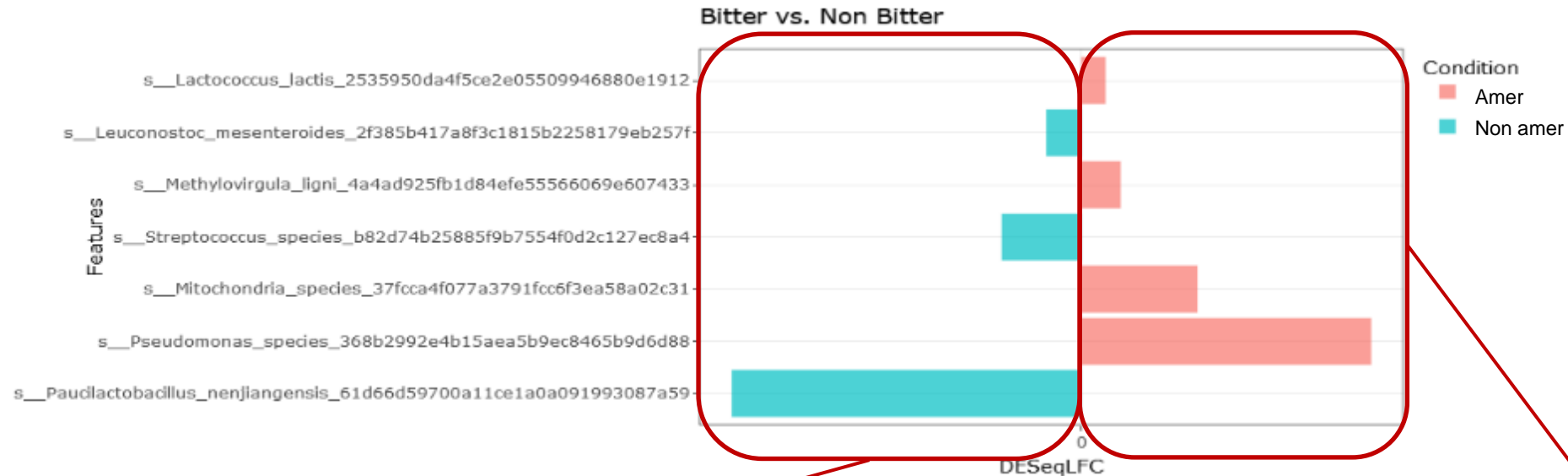


Différences de composition bactérienne des fromages (16S) selon le niveau d'amertume

Fromages totaux (tous temps de conservation confondus: 30 +60 jours)

Rang espèce

Seuil d'abondance relative 0,0001



Non amers:

- *Paucilactobacillus nenjiangensis*
- *Streptococcus thermophilus* (ferment de maturation chaude)
- *Leuconostoc mesenteroides*

Amers:

- *Pseudomonas sp.*
- ADN de mitochondrie de *Penicillium roqueforti*
- *Lactococcus lactis*
- *L. lactis subsp. cremoris* (ferment de maturation froide)

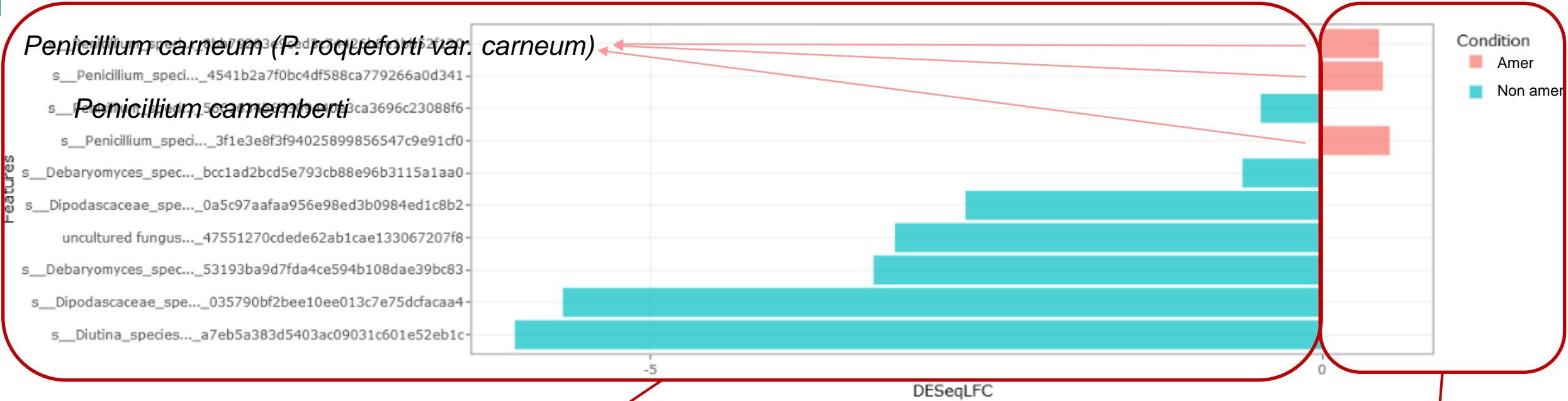
→ Selon le niveau d'amertume des fromages, l'équilibre dans les fromages des populations de ferments lactiques ajoutés pendant les phases de pré-maturation et de fabrication diffère.

Différences de composition fongique des fromages (ITS) selon le niveau d'amertume

Fromages totaux (tous temps de conservation confondus: 30 +60 jours)

Rang ASV

Seuil d'abondance relative 0,0001



Non amers:

- *Diutina* sp.,
- *Debaryomyces* sp.
- *P. camemberti*

Amers:

- *Penicillium roqueforti*

Conclusions



Conclusions

- Fromages du groupe “très amer” toujours perçus moins salés
- A 60 jours, amertume similaire pour les 2 groupes de fromages mais différences en termes de teneur en sel (les plus amers sont moins salés)
- Pour le facteur amertume dans les fromages :
 - Différences marquées des communautés bactériennes et fongiques.
 - Différences des équilibres des populations de ferments lactiques ajoutés pendant les phases de pré-maturation et de fabrication

Les fromages NON amers présentent des abondances relatives plus élevées des ASVs assignés à :

- *Streptococcus thermophilus* (ferment de maturation chaude)
- *Paucilactobacillus nenjiangensis*
- *Debaryomyces sp.* (ferment de surface)
- *Penicillium camemberti* (utilisée dans l’atelier)

Les fromages amers présentent des abondances relatives plus élevées des ASVs assignés à :

- *Lactococcus lactis sp. cremoris* (ferment de maturation froide)
- *Pseudomonas sp.*
- *Penicillium roqueforti*



Conclusions

Toutes les données sont acquises

Analyse croisée reste à faire entre :

- Les données ADN, ARN
- Les données de fabrication
- La composition physico-chimique des fromages
- la composition physico-chimique des laits
- Les aspects sensoriels des fromages



Remerciements

Le directeur et le personnel de la fromagerie de Saint-Flour
Aurélien Vorger (SIRBA/SIFAM)
Bastien Imler (stagiaire au Pôle fromager 09/19-02/20)
Céline Delbès (INRAE)
Isabelle Verdier-Metz (INRAE)
Sébastien Theil (INRAE)

