



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

Avec  
la contribution  
financière du compte  
d'affectation spéciale  
développement  
agricole et rural  
CASDAR



**MINISTÈRE  
DE L'AGRICULTURE  
ET DE L'ALIMENTATION**  
*Liberté  
Égalité  
Fraternité*

## Un nouveau regard sur l'effet de la température de chauffage en cuve sur le microbiote et la qualité organoleptique du Comté

Yvette Bouton - CIGC

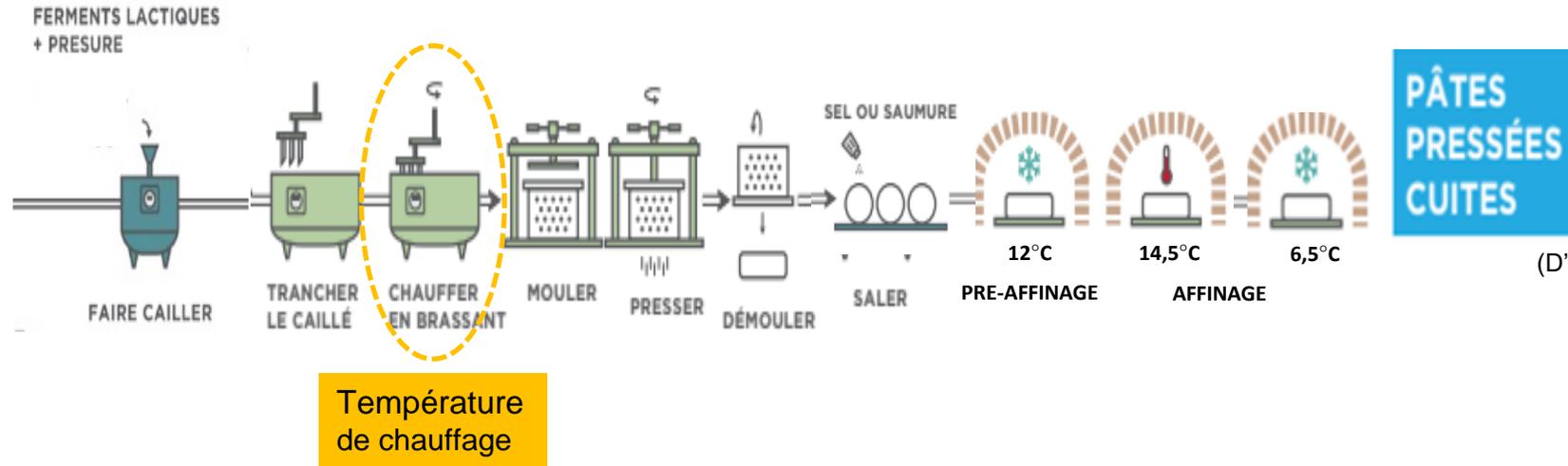
Rencontre savoir-faire et micro-biodiversité, de la ferme à des fromages de qualité  
28/11/2023 • La Roche sur Foron



Projet affilié au RMT  
Filières Fromagères Valorisant leur Terroirs



# Modèle PPC (Comté)



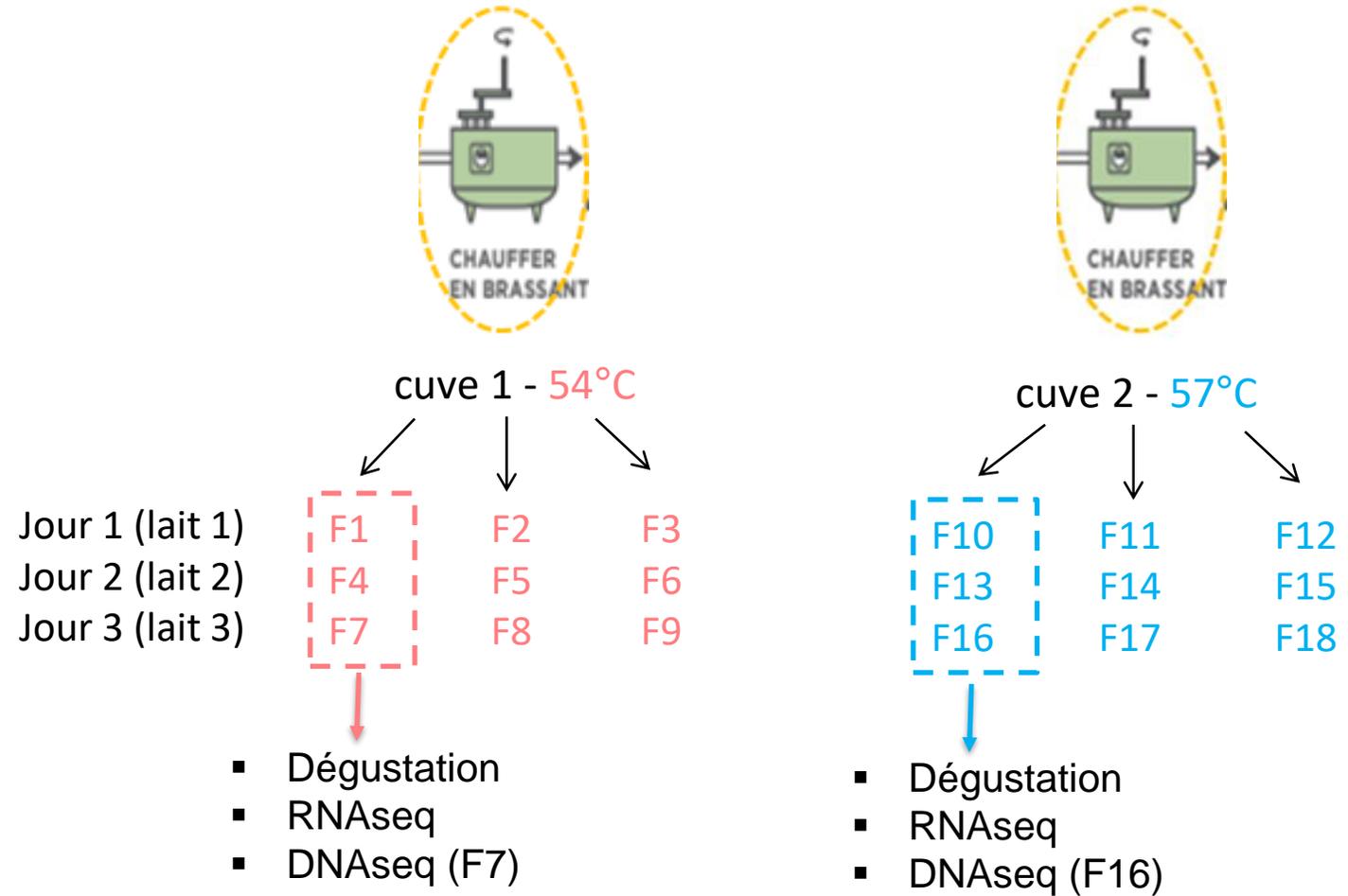
(D'après doc. CNIEL modifié)

## Objectifs

Mieux comprendre l'incidence de la température de chauffage du caillé sur la dynamique des espèces microbiennes pendant l'affinage et les caractéristiques sensorielles du fromage pour *in fine*, mieux maîtriser la qualité du produit fini.

# Dispositif expérimental - Plan d'expérience

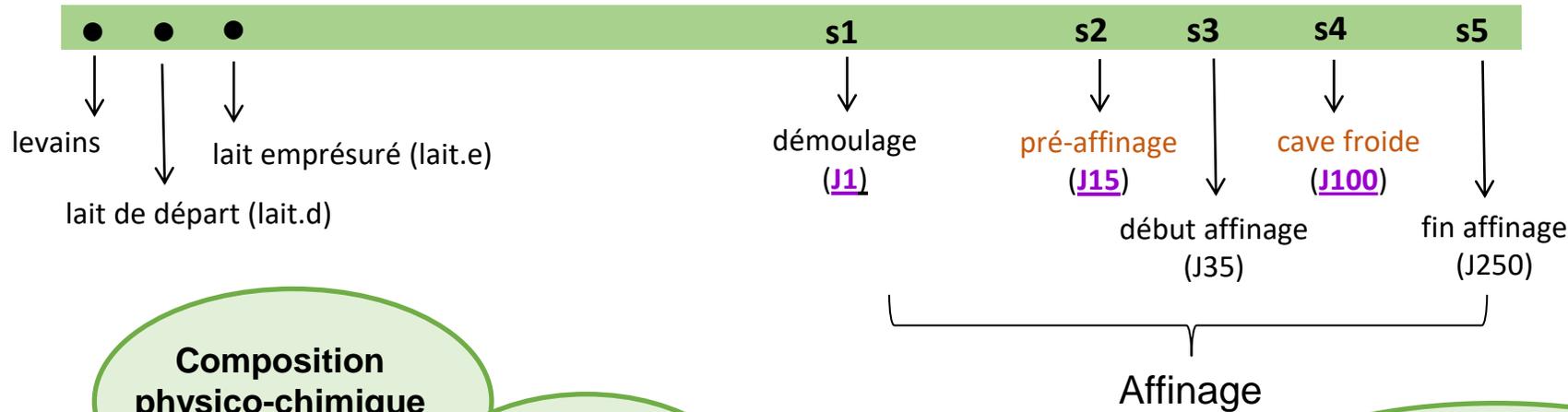
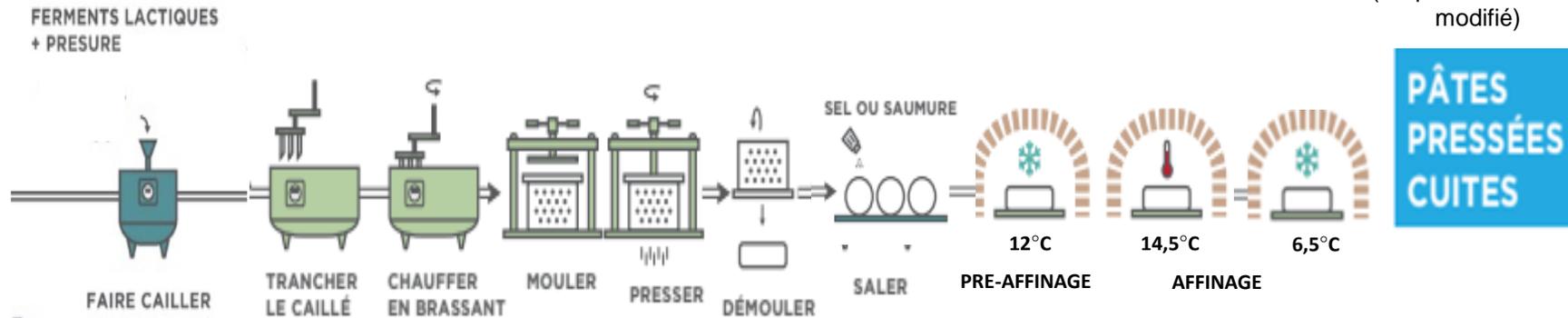
- Un atelier de fabrication
- Levains identiques
- 3 jours consécutifs
- Un cycle d'affinage



18 fromages au total

# Dispositif expérimental - Analyse en cinétique de la pâte

(D'après doc CNIEL modifié)



**Composition physico-chimique** des fromages

**Evaluation sensorielle** (dégustations)

**Microbiote des laits et des fromages**

- Dénombrements
- Métabarcoding (16S, ITS)
- Métagénomique (DNA seq)
- Métatranscriptomique (RNA seq)

# Résultats - Analyses physico-chimiques et sensorielles (dégustations)

## Fin affinage 8,5 mois

### Physico-chimie 20 h

	54°C	57°C
pH	5,3	5,3
ES	63,3	63,2
G/S	53,1	53,4
HFD	55,3	55,6

### 54°C

AGV totaux ≈ 185 mg (correct)  
 C2 : 104 mg/100g  
**C3 : 62 mg/100g**

Protéolyse : 1141 μM -NH<sub>2</sub>/g ESD

### 57°C

AGV totaux ≈ 110 mg (faible)  
 C2 : 79 mg/100g  
**C3 : 9 mg/100g**

Protéolyse : IM = 1090 μM -NH<sub>2</sub>/g ESD

HFD ≈ 52%  
 NaCl ≈ 0,97 %

Note pâte : 6,9 - Note goût : 6,8

Arômes :

- Lactique chauffé
- Fruité (abricot confiture miel)
- Torréfié (Noisette/graines),
- Bouillon de légumes
- Note soufrée.

Note pâte : 7,0 - Note goût : 6,8

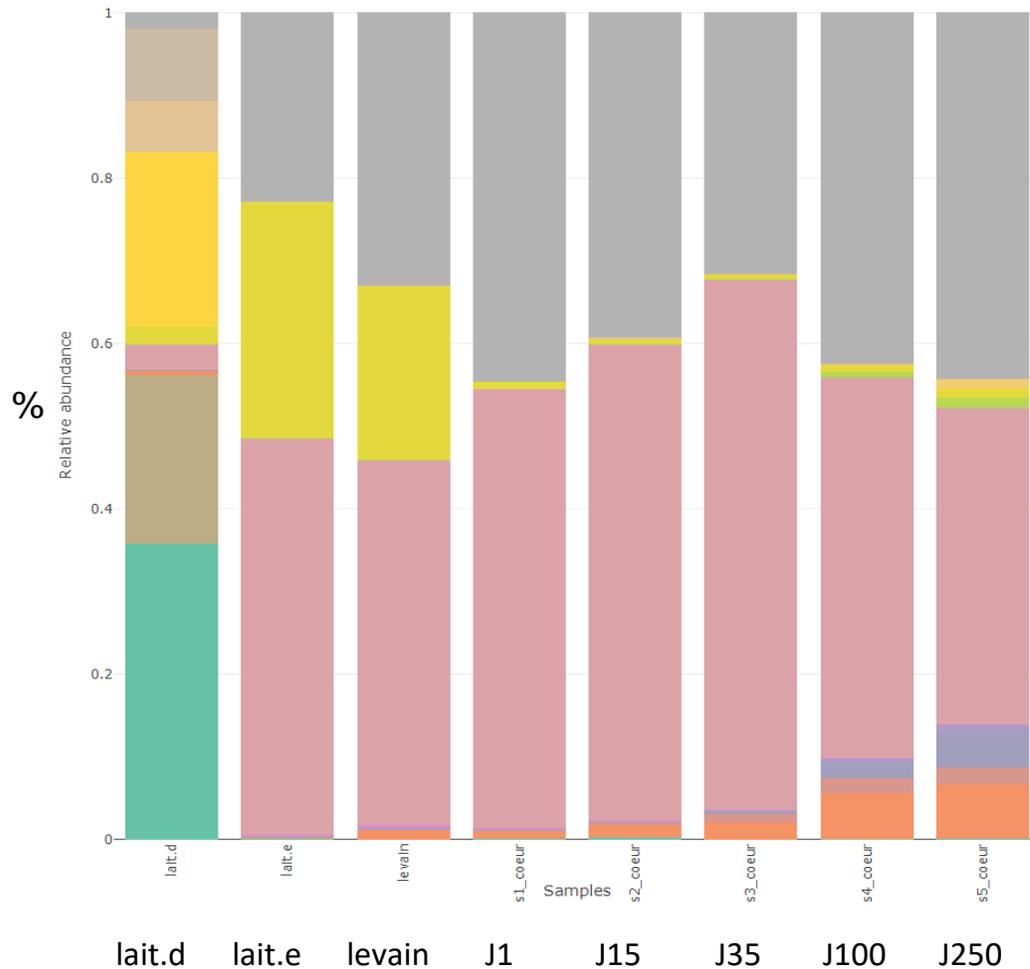
Arômes :

- Lactique acidifié, Lactique évolué
- Végétale (dont note verte).
- Gamme du Torréfié présente mais moins développée.
- Pointe d'oxydé-vert

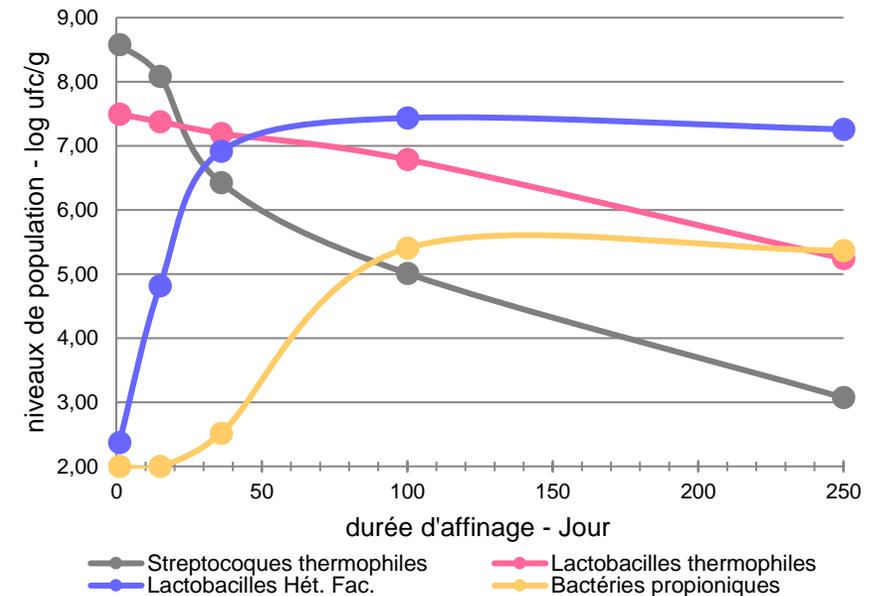


# Résultats - Abondance des espèces bactériennes majoritaires

➤ *bactéries (16S)*

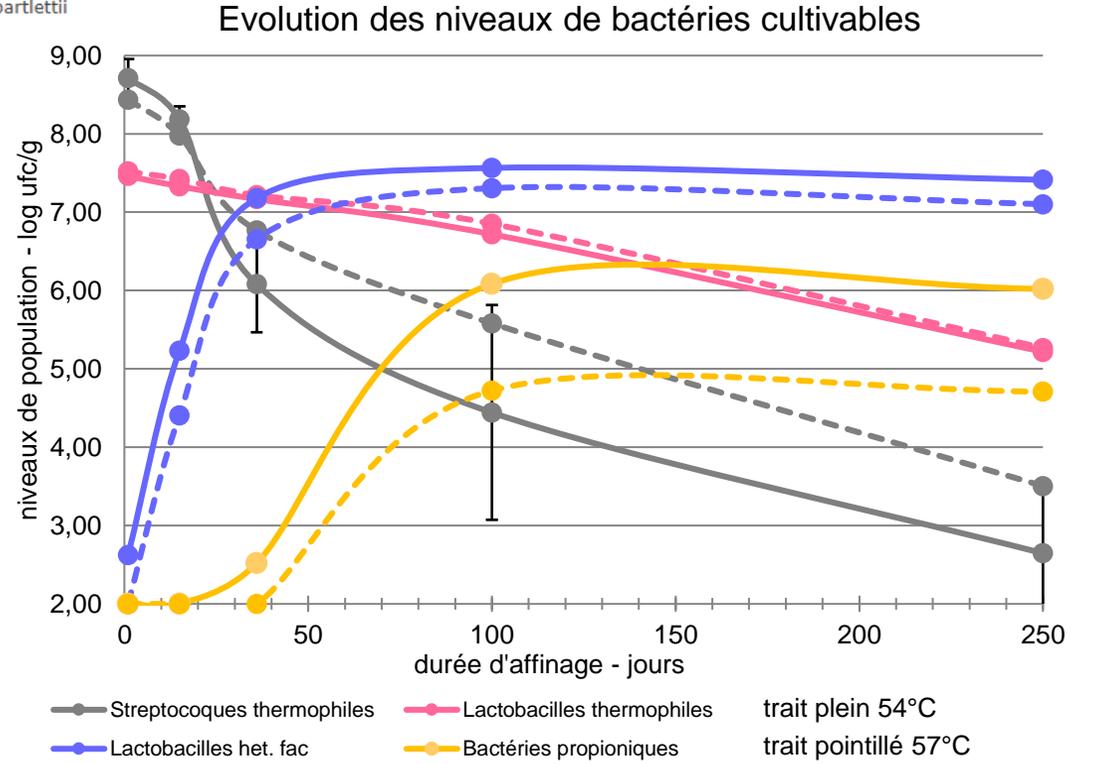
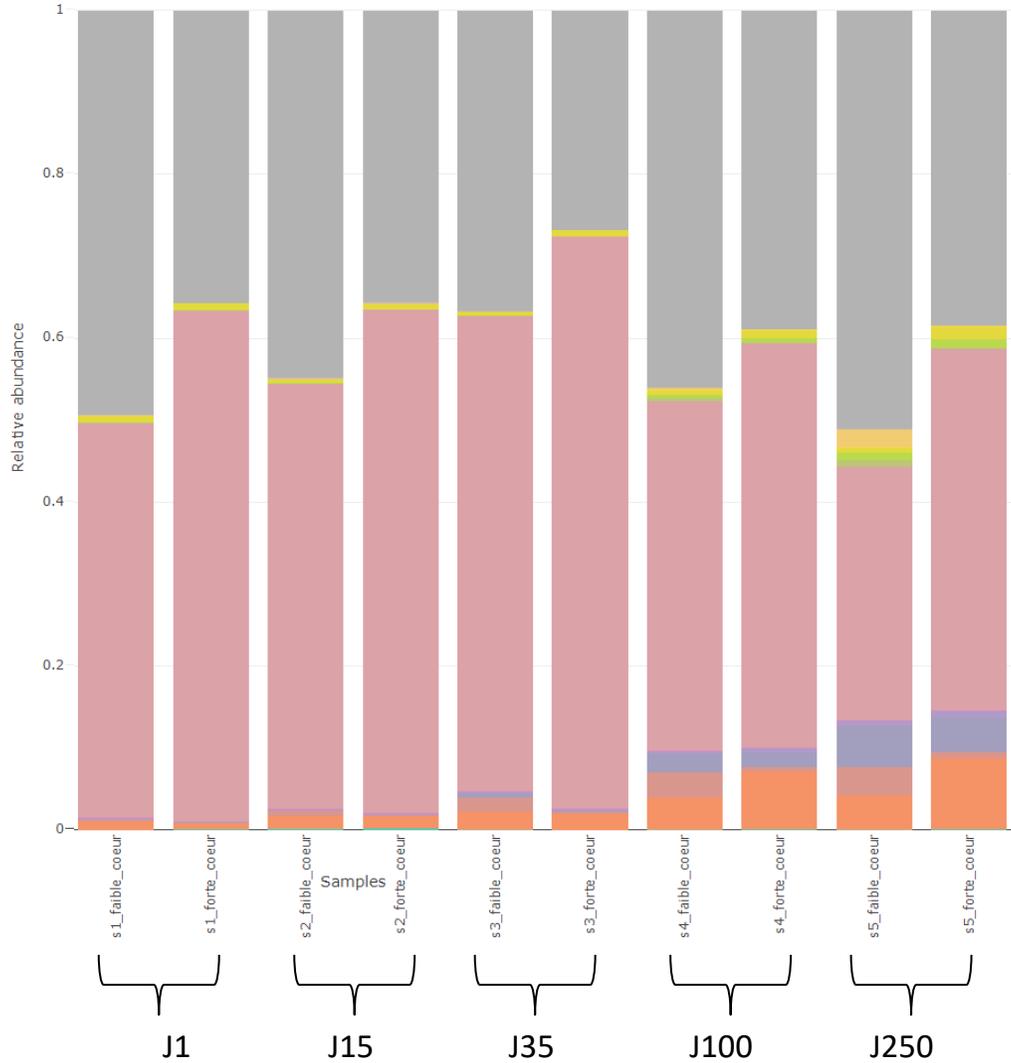


Evolution des niveaux de bactéries cultivables



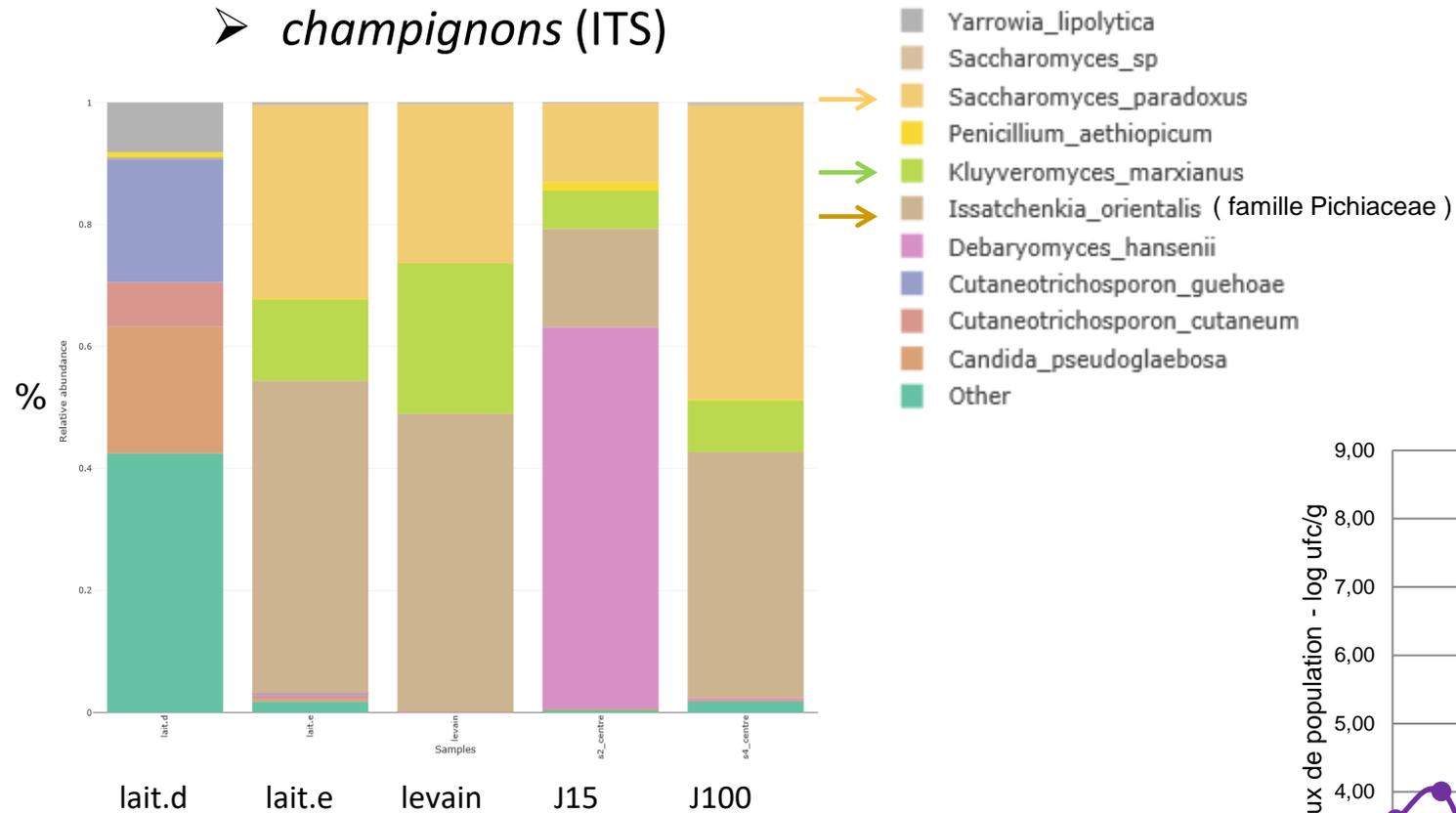


# Incidence de la température de chauffage du caillé

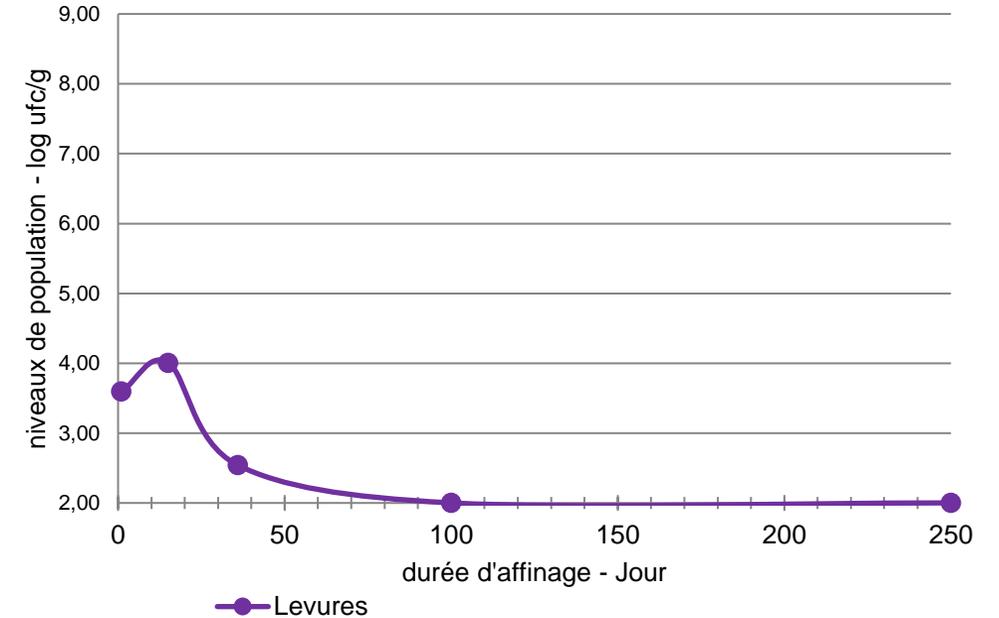


## Abondance des espèces fongiques majoritaires

### ➤ champignons (ITS)

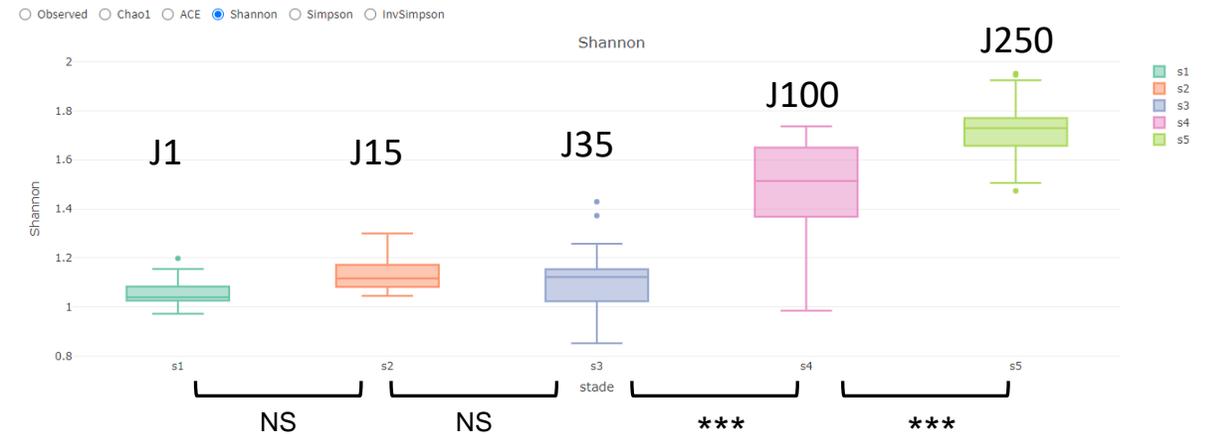
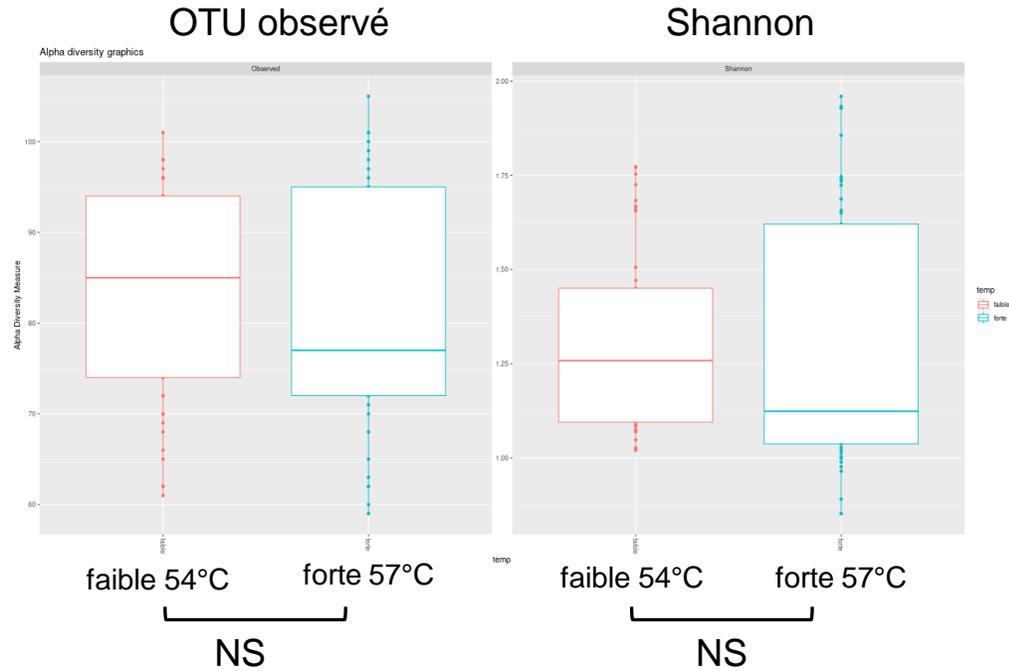


### Evolution des niveaux de levures cultivables





## Comparaison des niveaux de diversité $\alpha$ -diversité (richesse et équitabilité)



➤ Pas d'effet de la température de chauffage du caillé sur les indices de richesse et d'équitabilité (pâte -16S)

➤ Effet du stade d'affinage sur les indices de richesse et d'équitabilité (pâte -16S)

# Comparaison des profils des communautés bactériennes

## $\beta$ -diversité

```
Call:
vegan::adonis(formula = betaDist() ~ stade + temp + stade:temp, data = sample_data, permutations = 9999)

Permutation: free
Number of permutations: 9999

Terms added sequentially (first to last)
```

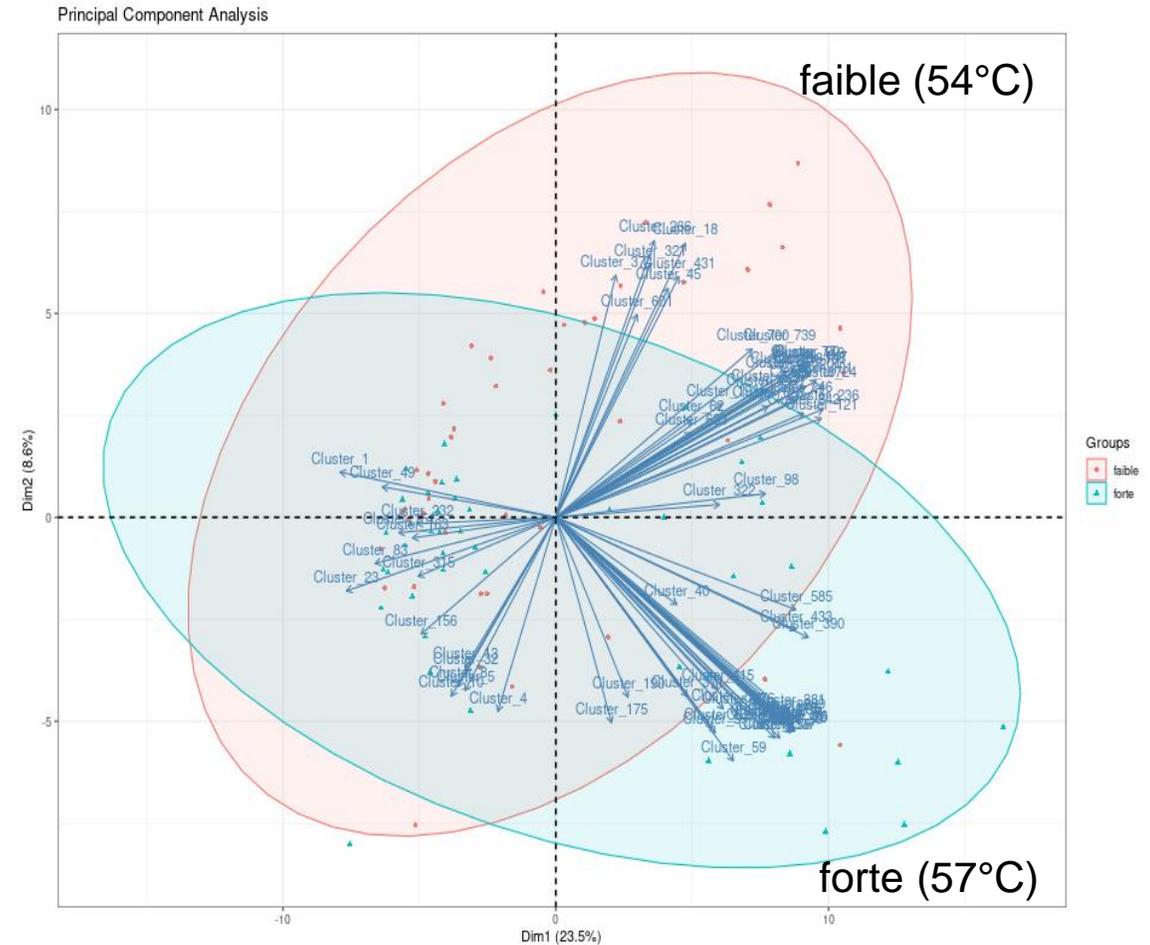
	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R2	Pr(>F)
stade	4	0.92607	0.23152	20.059	0.40559	0.0001 ***
temp	1	0.37982	0.37982	32.908	0.16635	0.0001 ***
stade:temp	4	0.05403	0.01351	1.170	0.02367	0.3158
Residuals	80	0.92334	0.01154		0.40439	
Total	89	2.28325			1.00000	

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

17%

Mesures de distance de Bray-Curtis,  
Multivariate ANOVA (PERMANOVA + Pairwise ADONIS)

- **Effet température** (17% de la variabilité expliquée) sur les profils des communautés bactériennes de la **pâte**



# Comparaison des profils des communautés bactériennes β-diversité

```
Call:
vegan::adonis(formula = betaDist() ~ stade + temp + stade:temp, data = sample_data, permutations = 9999)

Permutation: free
Number of permutations: 9999

Terms added sequentially (first to last)
```

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R2	Pr(>F)
stade	4	0.92607	0.23152	20.059	0.40559	0.0001 ***
temp	1	0.37982	0.37982	32.908	0.16635	0.0001 ***
stade:temp	4	0.05403	0.01351	1.170	0.02367	0.3158
Residuals	80	0.92334	0.01154		0.40439	
Total	89	2.28325		1.00000		

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

41%

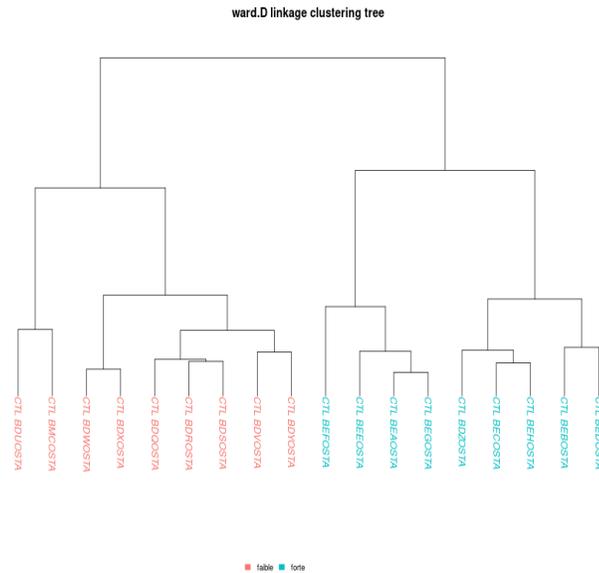
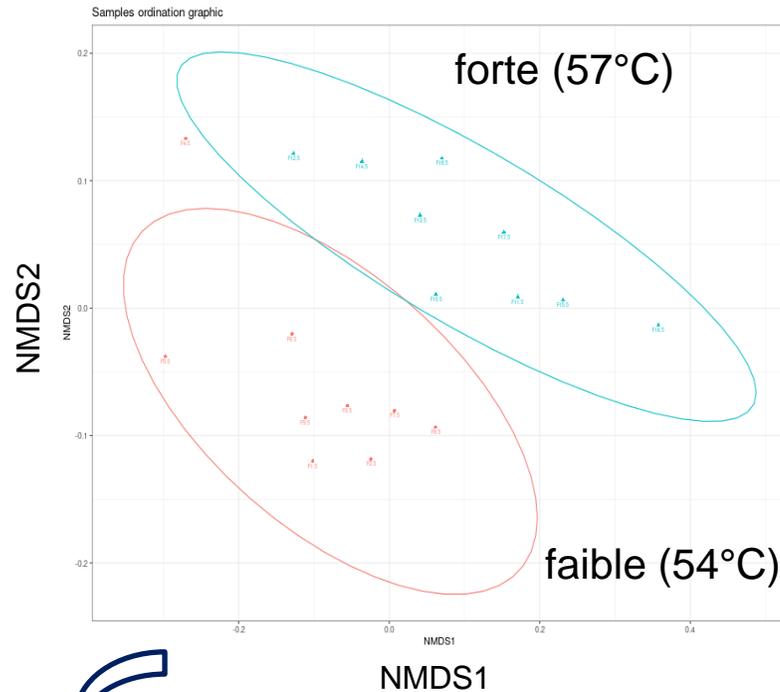
Mesures de distance de Bray-Curtis,  
Multivariate ANOVA (PERMANOVA + Pairwise ADONIS)

- **Effet stade d'affinage (41% de la variabilité expliquée) sur les profils des communautés bactériennes de la pâte**

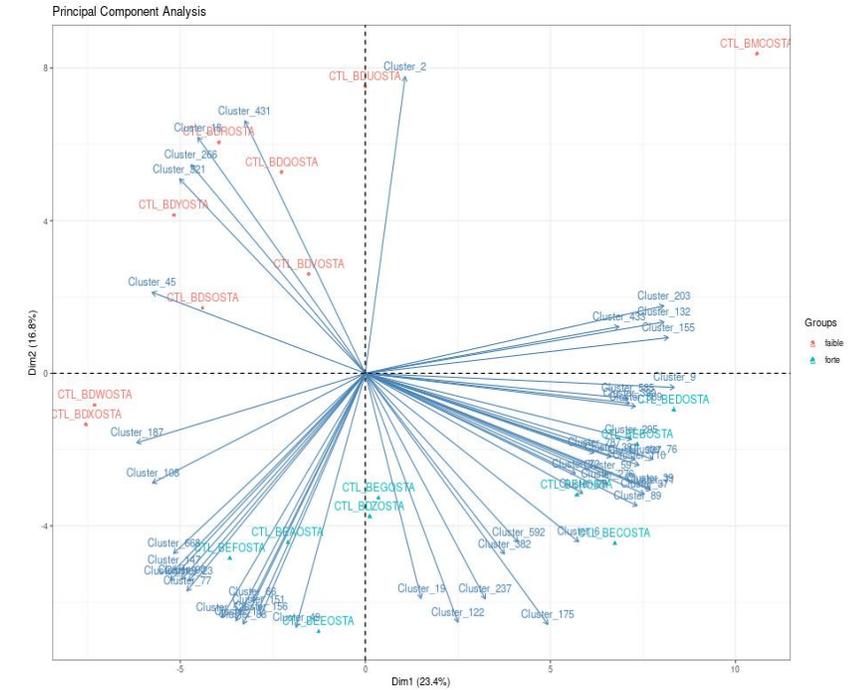


# Comparaison des profils des communautés bactériennes $\beta$ -diversité

Multidimensional scaling (Bray Curtis/NMDS) - s5

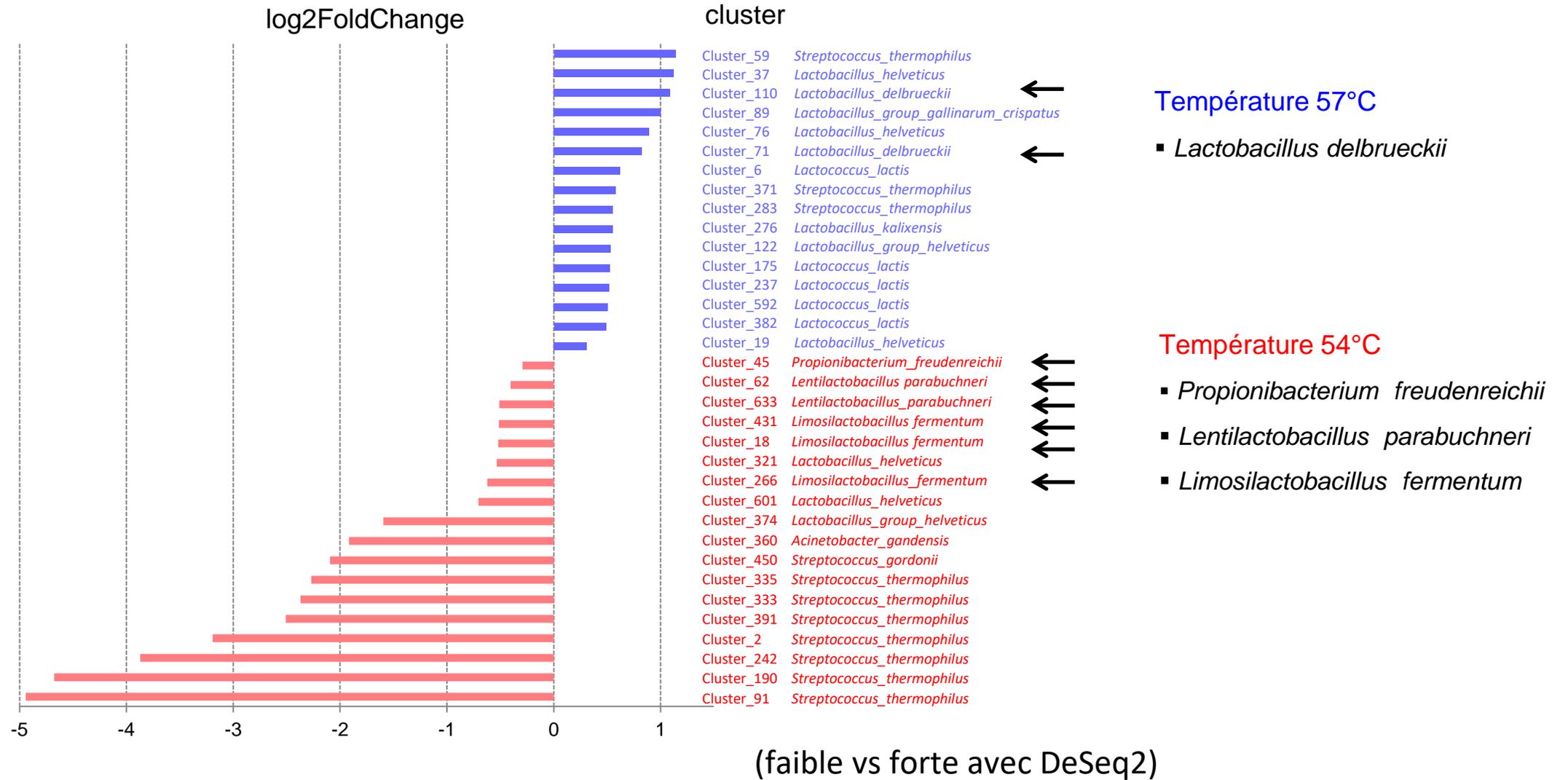


Samples clustering /Jaccard



**Effet température** (37% de la variabilité expliquée) sur les profils des communautés bactériennes de la pâte au stade **S5** (fin affinage).

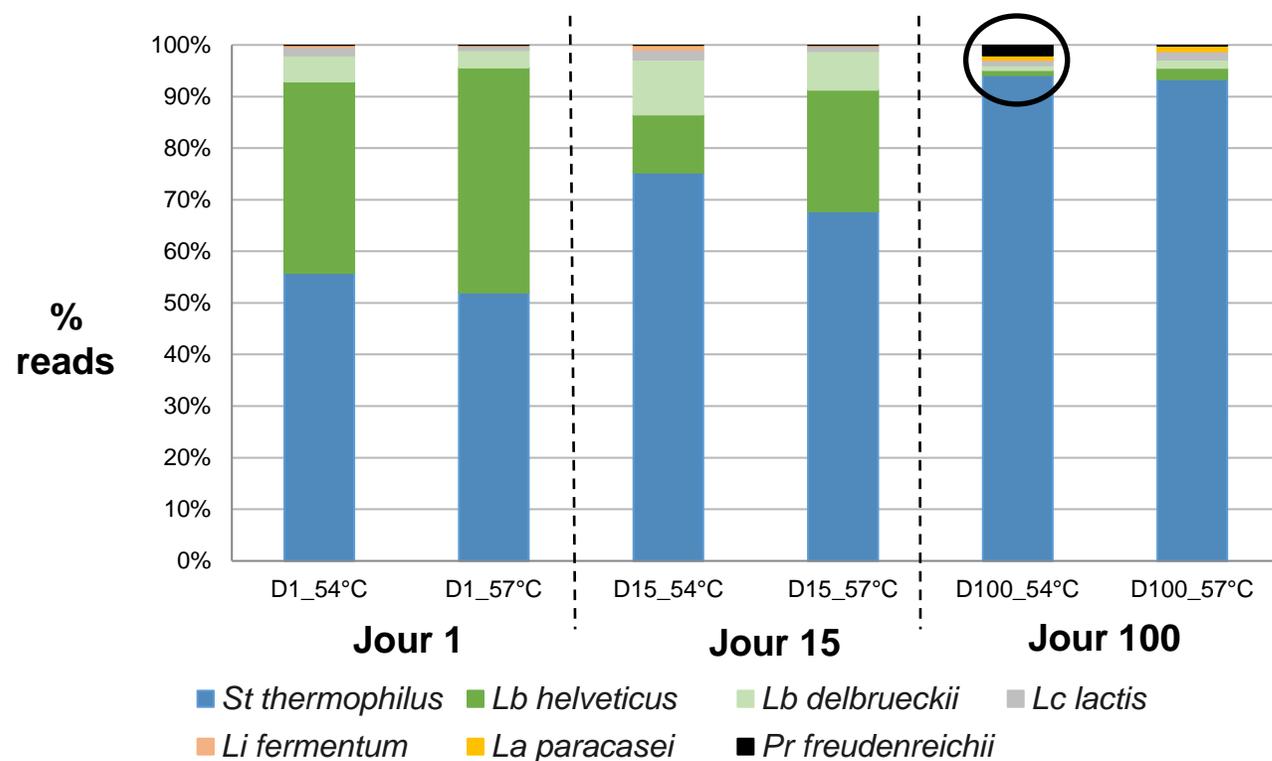
# Différences de composition bactérienne des fromages selon la température de chauffage en cuve





## Etude métatranscriptomique (premiers résultats)

Résultats DNA seq → sélection des génomes de référence (7 espèces ciblées) et réalisation de l'étape d'alignement des séquences RNAseq (mapping des reads RNAseq)



- transcriptome « complet » des espèces  
*St. thermophilus* (J1 à J100) et *L. helveticus* (J1 à J15)
- Autres espèces : seuls les gènes les plus exprimés sont quantifiables - *P. freudenreichii* plus actif à 54°C vs 57°C

## Conclusions

- Impact de la température de chauffage du caillé en cuve sur les profils des communautés microbiennes (pâte) et les profils aromatiques des fromages,
- Méthodologie d'extraction ARN et les analyses bio-informatiques ont permis d'avoir des transcrits aux stades d'affinage J1, J15 et J100 d'un fromage à PPC
- Impact de la température de chauffage du caillé en cuve sur l'activité de *Propionibacterium freudenreichii*
- Nécessité de poursuivre l'interprétation biologique des données métatranscriptomiques (nb de gènes différentiellement exprimés entre 57°C et 54°C pour une même espèce)

