

<ul style="list-style-type: none"> Auteur principal : BOUTON Yvette Comité Interprofessionnel du Comté - Av. de la Résistance BP26 - 39801 Poligny Cedex Tel: 03 84 37 23 51 Courriel: ybouton@comte.com 	Crée le : 02/06/2005	Modifiée le :
<ul style="list-style-type: none"> Ont participé à cette fiche : DESMASURES Nathalie Université de Caen Basse-Normandie BEUVIER Eric INRA-URTAL, Poligny 		

Faut-il privilégier la quantité ou la nature de la flore du lait ?

A partir de données expérimentales, obtenues sur des laits de bovins, cette synthèse fait le point sur les caractéristiques des laits pauci-microbiens et le rôle de la flore microbienne des laits, sur la qualité des fromages. L'accent est mis sur la pertinence ou non d'utiliser le niveau en FMAR (germes totaux) d'un lait, pour évaluer sa qualité fromagère. La réglementation fixe ce niveau à moins de 100000 germes/ml.

1- Caractéristiques des laits pauci-microbiens

Que sont les laits pauci-microbiens ?

Pauci = peu. Il s'agit donc de laits faiblement chargés en micro-organismes, correspondant à ce que l'on appelle aujourd'hui les laits « ultra-propres ». Le niveau à partir duquel un lait est considéré comme entrant dans cette catégorie a évolué. Au début des années 1990 étaient considérés comme ultra-propres les laits contenant moins de 50000 germes/ml¹. Aujourd'hui, il existe un fort pourcentage de laits renfermant moins de 10000 germes/ml et un pourcentage non négligeable de laits à moins de 5000 germes/ml².

Quels sont la nature et le niveau des différentes flores rencontrées dans ces laits ?

Peu d'études ont été publiées sur ce sujet. Une synthèse des données disponibles permet d'estimer le niveau de la flore halotolérante à 10³ unités formant colonie par millilitre (ufc/ml) de lait, celui des *Pseudomonas* à 10³ ufc/ml. Les lactocoques (10² à 10³ ufc/ml), les lactobacilles (10²), les entérocoques (10¹-10²), les levures (10¹-10²), les bactéries propioniques (10¹) et les entérobactéries (10¹) viennent ensuite. Les coliformes thermotolérants, *Geotrichum candidum*, les moisissures et les spores aérobies ont, dans la plupart des cas, des niveaux inférieurs à 10 ufc/ml. Il s'agit ici cependant de valeurs moyennes, la variabilité entre laits peut être très importante.

En comparaison avec des laits plus chargés, comment se positionnent les laits pauci-microbiens ?

Si l'on s'intéresse à l'exemple des lactocoques, les valeurs extrêmes du pourcentage de lactocoques dans la flore « totale » semblent être comparables entre laits fortement chargés (1 à 50% de lactocoques pour 178 laits refroidis ou non contenant 10⁵ à 10⁸ ufc/ml) et laits peu chargés (2 à 50% pour 69 laits réfrigérés de charge allant de 7.10² à 7,9.10⁴ ufc/ml). Les valeurs moyennes publiées pour le pourcentage de lactocoques dans la flore « totale » varient d'environ 6 à 30% pour des laits fortement chargés, dans le cas de deux études portant sur des laits pauci-microbiens, elles sont de 7 à 13%. En valeur relative, le pourcentage des lactocoques dans la flore est donc au mieux équivalent voire plus faible dans les laits pauci-microbiens, en valeur absolue, le nombre de lactocoques a donc diminué dans ces laits.

Que sait-on des caractéristiques technologiques des laits pauci-microbiens ?

Globalement, leur acidification naturelle est plus lente et moins importante que celle de laits plus chargés même si, là encore, d'importantes variations existent entre laits.

Il est possible de penser que certaines microflore présentes dans de tels laits deviennent « atypiques ». Une étude réalisée en 2000 en Normandie sur la caractérisation de lactocoques de laits crus du Pays d'Auge a révélé des comportements inattendus des isolats obtenus, avec une croissance à 45°C possible pour 38% de 297 isolats et une croissance en présence de 6,5% NaCl et à pH 9,6 constatée pour 84% des lactocoques étudiés. L'étude des réactions de réduction, acidification et coagulation du lait tournesolé a montré que, sur 384 isolats, 82% sont peu acidifiants ou inactifs. Ceci n'était le cas que pour 38% et 54% des lactocoques issus de laits d'exploitations du Bessin et du Bocage, respectivement, en 1997 lors d'une étude similaire. Un travail mené de la même façon en 1995, sur des exploitations du Bessin et du Pays d'Auge avait conduit à seulement 11% d'isolats « atypiques ».

L'évolution de la nature des flores des laits pauci-microbiens va-t-elle vers un appauvrissement en diversité ?

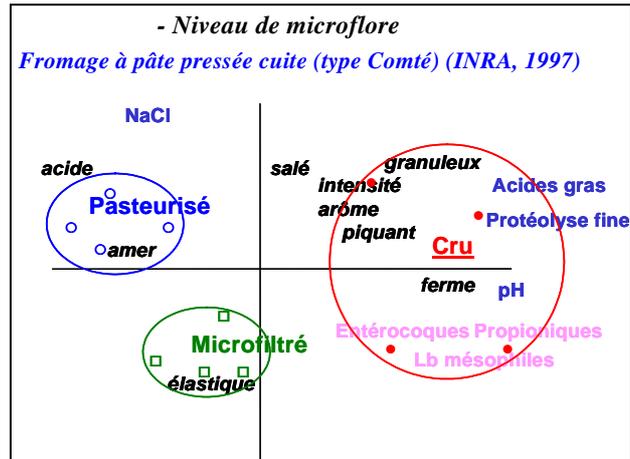
La recherche de *Lactococcus lactis* ssp *cremoris* (phénotype) en 1993 dans des laits crus du Maroc, de Chine, de Yougoslavie³ (niveau de contamination non précisé mais supposé assez important) s'est révélée positive. Si des études menées sur des laits de Basse-Normandie en 1989 avaient permis de détecter des isolats de phénotype « *cremoris* », lors de celles menées depuis, seul le phénotype « *lactis* » a été détecté. Dans des laits produits aux Etats-Unis en 1993³, en plus de l'absence de *Lc. cremoris*, celle des lactocoques en général a pu être constatée.

En résumé, dans les laits pauci-microbiens :

- Les micro-organismes de « contamination fécale » sont à un niveau très réduit, ce qui permet de justifier leur « qualité » hygiénique,
- Les micro-organismes halotolérants, les lactocoques et les *Pseudomonas*, constituent en moyenne la flore majoritaire (équilibre variable entre eux suivant les laits voire les exploitations),
- Le pouvoir acidifiant des laits ↔ des flores est diminué.

2- Effets de la suppression de la flore par microfiltration ou pasteurisation du lait : Exemples des fromages de types Comté et Cantal

- Une première étude (INRA-CIGC, 1995)⁴ portant sur la comparaison de fromages expérimentaux de type pâte pressée cuite (technologie Comté) fabriqués en parallèle à partir de lait cru (flore totale : 130000 ufc/ml) et de lait microfiltré (flore totale : 2000 ufc/ml) a montré, après quatre mois d'affinage, des différences significatives entre les deux populations de fromages. Les deux phénomènes biochimiques majeurs rencontrés au cours de l'affinage de ce type de fromage étaient réduits de 15 et 80% dans les fromages au lait microfiltré, respectivement pour la protéolyse fine et la fermentation propionique. Une baisse de l'intensité du goût, de la typicité, de l'acide-piquant ainsi qu'une augmentation de l'amertume et du mauvais goût ont également été observées dans ces fromages.
- Dans une autre expérimentation (INRA, 1997)⁵ portant également sur un modèle de fromage à pâte pressée cuite, le lait cru (flore totale : 46000 ufc/ml) a été comparé au lait microfiltré (flore totale : 500 ufc/ml) et au lait pasteurisé (flore totale : 5000 ufc/ml). Après trois mois d'affinage, les fromages fabriqués au lait cru présentaient des niveaux de protéolyse fine et d'acides gras volatils plus importants que les autres fromages. L'intensité de l'arôme et le piquant étaient également plus élevés comparativement aux fromages fabriqués au lait microfiltré. Ces caractéristiques sensorielles étaient corrélées avec des niveaux plus hauts en populations de lactobacilles mésophiles, de bactéries propioniques et d'entérocoques.



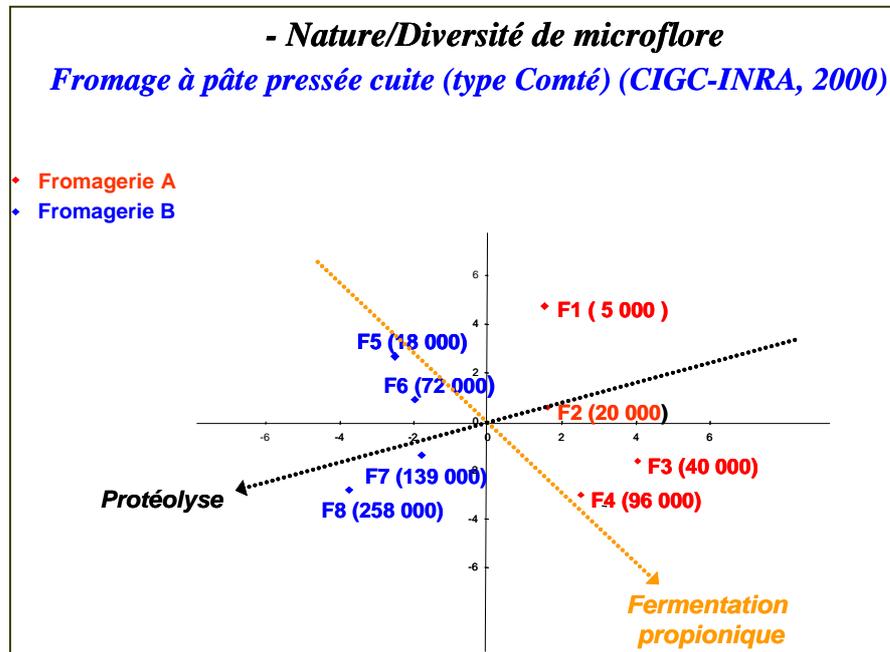
- Les effets de la microflore du lait et de l'alimentation des vaches ont également été étudiés sur des fromages à pâte pressée non cuite (type Cantale) fabriqués à partir de lait cru ou pasteurisé, issu de vaches, soit alimentées en prairie naturelle très diversifiée soit, recevant 35% de foin de prairie naturelle et 65% de concentrés (INRA, 2002)⁶ Après quatre mois d'affinage, l'intensité de l'arôme et sa diversité étaient plus marquées dans les fromages au lait cru que dans les fromages au lait pasteurisé. La diversité aromatique liée à l'alimentation des vaches disparaissait dans les fromages au lait pasteurisé.

En résumé : La comparaison de fromages expérimentaux fabriqués à partir de lait cru, lait pasteurisé (72°C-30 s) ou microfiltré (épuration du lait écrémé à 35°C, avec pasteurisation de la crème) a mis en évidence le rôle prépondérant de la microflore naturelle du lait cru sur la qualité finale des fromages. L'élimination de la microflore indigène du lait entraîne une diminution des processus biochimiques (protéolyse fine, fermentation) et de l'intensité aromatique des fromages.

3- Effets de la nature de la flore du lait - Exemples des fromages de types Comté et Camembert

- Dans une étude (INRA, 1997)⁷ réalisée sur des fromages à pâte pressée cuite, les microflore (récupérées à partir des trois rétentats de microfiltration) de laits issus de trois fromageries différentes (A, B, C) ont été comparées sur une même base physico-chimique, obtenue en mélangeant les trois laits écrémés puis microfiltrés et les trois crèmes pasteurisées (flore totale : 1600 ufc/ml). Cette base a ensuite été réensemencée individuellement à partir des différents rétentats, conduisant à l'obtention de trois « laits crus » (flore totale lait A : 66000 ufc/ml, lait B : 71000 ufc/ml, lait C : 36000 ufc/ml). Après six mois d'affinage, outre les différences liées à la quantité de microorganismes, la nature de la flore est apparue importante dans la formation de la qualité finale du fromage. Avec des niveaux de flore comparables entre les différents groupes de micro-organismes (lactobacilles mésophiles, entérocoques), les fromages fabriqués à partir des laits A, B et C présentaient des caractéristiques biochimiques et sensorielles différentes liées à leur origine.
- Un autre travail (CIGC-INRA, 2000)⁸ s'est attaché à comparer plusieurs niveaux de microflore (récupérées à partir des rétentats de microfiltration) de laits provenant de deux fromageries différentes (A,B). Des quantités croissantes de rétentats ont été réintroduites dans chacun des deux laits microfiltrés en respectant l'origine des flores. Quatre niveaux de microflore ont ainsi été obtenus pour chacun des deux « laits crus » reconstitués (flore totale A1 : 5000 ufc/ml, A2 :20000 ufc/ml, A3 :41000 ufc/ml, A4 :96000 ufc/ml, B1 :18000 ufc/ml, B2 :72000 ufc/ml, B3 :139000 ufc/ml, B4 :258000 ufc/ml). Après cinq mois d'affinage, le niveau de flore initiale des laits n'avait pas d'incidence sur la protéolyse fine des fromages. Par contre, des différences significatives sont apparues entre les deux origines. Ces variations pouvaient s'expliquer non seulement par la nature différente de la microflore (espèces, souches) des deux laits mis en œuvre mais également par des

interactions entre la microflore naturelle et les levains lactiques. Par ailleurs, pour une même origine, la fermentation propionique était corrélée au niveau de microflore initiale. Toutefois, l'obtention de taux différents d'acide propionique avec un même niveau de flore initiale et *a contrario* des teneurs en acide propionique similaires avec des niveaux de flore initiale très différents souligne l'importance de la nature de la microflore dans la qualité finale des fromages.



- Enfin, les incidences du niveau et de la nature de la microflore du lait ont également été étudiées en technologie pâte molle (Laboratoire de Microbiologie Alimentaire, Caen)⁹. Il s'agissait d'évaluer si la flore originelle du lait a une incidence sur les propriétés organoleptiques du Camembert A.O.C. et plus particulièrement de tenter de répondre à deux questions majeures : les laits pauci-microbiens permettent-ils d'obtenir des produits typés ? Les laits ont-ils tous la même aptitude à produire un fromage de qualité ?

Trois exploitations ont été sélectionnées pour produire régulièrement du lait ayant des caractéristiques microbiologiques relativement reproductibles : charge microbienne moyenne (10^4) et niveau moyen en flores utiles (lactocoques, lactobacilles, levures) pour l'un, charge microbienne faible ($5 \cdot 10^3$), niveau faible en flores utiles et dominance des *Pseudomonas* pour le second, charge microbienne plus élevée ($5 \cdot 10^4$) et niveau très élevé en flores utiles pour le troisième. Du lait issu de ces exploitations et un lait de mélange de fromagerie ont été transformés en Camembert type A.O.C, en appliquant une technologie identique pour les 4 laits. Trois séries de fabrications ont eu lieu, au cours desquelles des analyses microbiologiques, physico-chimiques et sensorielles ont été réalisées.

Le suivi de l'évolution du niveau de la flore au cours de l'affinage a révélé qu'un niveau faible en flores utiles dans le lait n'engendre pas un faible niveau de ces mêmes flores dans le fromage affiné. Les résultats de l'évaluation sensorielle des Camemberts, mis en parallèle avec les niveaux de flores initiaux dans les laits ont montré, lors de la première série de fabrication (automne) que le lait faiblement chargé a donné les fromages les moins appréciés et le lait fortement chargé (lait de mélange de fromagerie) a donné les fromages les meilleurs. Lors de la deuxième fabrication (hiver), il a été constaté, à l'inverse, que des laits peu chargés en micro-organismes peuvent donner de meilleurs fromages que des laits de mélange plus chargés. Le niveau de la microflore n'intervient donc probablement pas de façon directe. La microflore intervient-elle alors ? Lors des fabrications d'hiver et d'été, un même coagulum (issu d'un lait donné) a été réparti pour une moitié dans les moules utilisés ordinairement dans la fromagerie (brossés à l'eau froide entre deux fabrications) et pour l'autre moitié dans des moules préalablement ébouillantés. Le suivi de l'évolution du pH au cours de la transformation a montré un comportement différent selon les moules pour un même coagulum, révélant des interactions probables entre microflore des laits et microflore des moules, interactions n'allant pas toujours dans le même sens d'une fabrication à l'autre.

Cette différence de comportement a pu être constatée également au travers de l'appréciation globale des Camemberts.

Ainsi, cette étude montre que les laits pauci-microbiens peuvent permettre d'obtenir des produits typés. Les laits n'ont pas tous la même aptitude à produire un fromage de qualité. La flore originelle du lait a une incidence sur les propriétés organoleptiques du Camembert A.O.C. Cette importance est probablement plus d'ordre qualitatif (souches, interactions avec la flore d'ambiance) que quantitatif. Si la nature fine de la microflore semble plus importante que son niveau, attention cependant au maintien de ces micro-organismes !

En résumé : La charge globale d'un lait ne reflète pas sa qualité fromagère¹⁰. Au-delà de la quantité de micro-organismes présents dans le lait, la nature de la microflore contribue pour une variété donnée, à la richesse aromatique des fromages au lait cru.¹¹

¹ Les laits paucimicrobiens : Caractérisations microbiologique et enzymatique. Analyse de leurs aptitudes technologiques. In : Arilait-Recherches (Ed), novembre 2000, 65 pages, ISBN 2-912384-05-2.

² Michel V., Hauwuy A., Chamba J.F. (2001). La flore microbienne de laits crus de vache : diversité et influence des conditions de production. *Lait* 81, 575-592.

³ Salama S.M., Musafija-Jeknic T., Sandine W.E., Giovannoni S.J. 1995. An ecological study of lactic acid bacteria : isolation of new strains of *Lactococcus* including *Lactococcus lactis* subspecies *cremoris*. *J Dairy Sci* 78, 1004-1017.

⁴ Bouton Y., Grappin R. (1995). Comparaison de la qualité de fromages à pâte pressée cuite fabriqués à partir de lait cru ou microfiltré. *Lait* 75, 31-44

⁵ Beuvier E., Berthaud K., Cegarra S., Dasen A., Pochet S., Buchin S., Duboz G (1997). Ripening and quality of Swiss-type cheese made from raw, pasteurized or microfiltered milk. *Int. Dairy Journal* 7, 311-323.

⁶ Verdier-Metz I., Martin B., Hulin S., Ferlay A., Pradel P., Coulon J.B. (2002). Combined influence of cow diet and pasteurisation of the milk on sensory properties of French PDO Cantal cheese. In: CIDIL (Ed), CD, 26th IDF World Dairy Congress Congrilaite, Paris, 24-28 September.

⁷ Demarigny Y., Beuvier E., Buchin S., Pochet S., Grappin R. (1997). Influence of raw milk microflora on the characteristics of Swiss-type cheeses. II. Biochemical and sensory characteristics. *Lait* 77, 151-167.

⁸ Bouton Y. (2000). Incidences du niveau de flore d'un lait de fabrication sur la qualité d'un fromage à pâte pressée cuite. In : Les Nouvelles du Comté n°36 pp 1,4.

⁹ Desmasures N. 1995. Etude de laits de haute qualité: caractéristiques microbiologiques et aptitude à la transformation en camembert au lait cru. Doctorat de l'Université de Caen.

¹⁰ Guéguen M., Desmasures N., Corroler D. 1997. Contribution à l'étude de l'impact des flores sauvages dans la fabrication des camemberts A.O.C. *Comptes rendus de l'Académie d'Agriculture de France* 83, 41-58.

¹¹ Beuvier E., Buchin S. (2004). Raw milk cheeses. In: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Third edition -Volume 1: General Aspects. Elsevier Ltd. pp 319-345.