

Les fromages à pâte molle sous la loupe des chercheurs

* Par [DENIS ROY](#), professeur titulaire, Département des sciences des aliments et de nutrition, titulaire de la chaire de recherche du Canada en biotechnologies des cultures lactiques d'intérêt laitier et probiotique et de la chaire de recherche CRSNG-Industrie laitière en technologie et typicité fromagère, Université Laval, [STEVE LABRIE](#), professeur adjoint, et [MARIANNE ARTEAU](#), étudiante à la maîtrise en microbiologie agricole, Département des sciences des aliments et de nutrition, Université Laval

■ Suivre le développement de la flore fongique des fromages de type camembert et la caractériser? Oui, c'est possible!

L'artisan fromager démontre tout son savoir-faire lorsqu'il fabrique du camembert. La production de ce type de fromage exige une bonne maîtrise des techniques de fabrication parce qu'elle se base sur l'apport d'une flore bien particulière, c'est-à-dire les levures et les moisissures. Cette flore fongique est responsable de l'apparence et du goût caractéristiques des fromages camembert et brie. Il devient donc primordial d'être en mesure de suivre l'évolution de cette flore au cours de la maturation et de détecter rapidement la présence de contaminants. Comment faire? Des chercheurs se sont posé la question.

Dans le cadre de la Chaire de recherche CRSNG-industrie laitière en technologie et typicité fromagère, les professeurs Denis Roy, Ph. D., titulaire principal de la chaire et pionnier de la mise en œuvre des technologies métagénomiques appliquées aux systèmes alimentaires, et Steve Labrie, Ph. D., spécialiste des mycètes (levures et moisissures) laitiers, ainsi que la candidate à la maîtrise de

l'Université Laval Marianne Arteau ont trouvé une nouvelle façon de caractériser la flore fongique des fromages de type camembert. En effet, l'étudiante a évalué, au Centre STELA (sciences et technologie du lait) et à l'INAF (Institut des nutraceutiques et des aliments fonctionnels), de nouvelles méthodes moléculaires de détection afin de définir les flores fongiques en fonction du temps de

maturation et du procédé de fabrication des camemberts.

LE PROFIL GÉNOMIQUE DE LA FLORE FONGIQUE

À la manière des spécialistes des enquêtes, les chercheurs du Centre STELA et de l'INAF ont appliqué des méthodes de détection moléculaires qui ne nécessitent pas l'utilisation de milieux de culture. Les nouvelles méthodes sont rapides, fiables et capables de détecter simultanément toutes les levures et moisissures présentes dans les fromages de type camembert. La première étape consiste à extraire le matériel génétique présent à la surface et au cœur des fromages.

EN UN CLIN D'OEIL

CHAMP D'APPLICATION: Production fromagère.

OBJET DE LA RECHERCHE/ÉLÉMENTS D'INNOVATION: Caractérisation de la flore fongique des fromages de type camembert.

RETOMBÉES POTENTIELLES: Détection rapide de contaminants et vérification du développement optimal de la flore fongique en cours d'affinage des fromages de type camembert.

RECHERCHE SUBVENTIONNÉE PAR: CRSNG, Agropur inc., Fromagerie Clément/Damafro inc., Les Producteurs laitiers du Canada, Novalait inc., Parmalat Canada Dairy and Bakery, Saputo inc. et l'Université Laval.

POUR EN SAVOIR D'AVANTAGE: Denis Roy, Ph. D., professeur titulaire, Département des sciences des aliments et de nutrition, Université Laval, Québec. denis.roy@inaf.ulaval.ca

MARIANNE ARTEAU



Type de pâte selon la technologie utilisée : à gauche, stabilisée et à droite, traditionnelle.

Tous les organismes vivants contiennent de l'ADN. Pour l'extraire, Marianne Arteau a conclu que des traitements enzymatiques pourraient déstabiliser les parois des espèces fongiques et faciliter l'extraction de l'ADN fongique.

Une fois cet ADN purifié, il faut cibler une région bien conservée chez toutes les levures et moisissures, et, en même temps, unique à chacune des espèces : c'est l'ADN ribosomal qui

code pour l'ARN des ribosomes, la structure responsable de la synthèse des protéines. Deux régions de cet ADN ribosomal ont été ciblées et amplifiées par une réaction enzymatique appelée PCR. Grâce à un équipement de pointe, un séquenceur d'ADN, l'étudiante a été capable de détecter tous les mycètes utilisés comme flore d'affinage, soit *Penicillium camemberti*, *Geotrichum candidum* et *Kluyveromyces lactis*. Il a aussi été possible

d'identifier la flore se développant au cœur du fromage (*Kluyveromyces* et *Saccharomyces*) ainsi que la flore secondaire et les contaminants. De plus, la succession des flores pendant la maturation a pu être suivie.

En industrie, deux types de pâtes molles peuvent être obtenues selon qu'on utilise une technologie classique – pâte traditionnelle – ou modifiée – pâte stabilisée – (voir photo). Pour obtenir un camembert avec une pâte



CAMEMBERT OU BRIE

Le camembert et le brie d'appellation d'origine contrôlée (AOC) sont des fromages à pâte molle et à croûte fleurie. De couleur blanche et de forme ronde, ils sont faits à partir de lait cru et sont originellement et respectivement produits dans les régions de Camembert (Normandie) et de Brie, en France. La principale différence entre ces fromages est le diamètre de la galette qui se doit d'être plus petite pour le camembert AOC que pour le brie AOC. Le camembert a un goût un peu plus prononcé que le brie. Les fromages de type camembert et brie peuvent être fabriqués au Québec parce que la mention camembert ou brie n'est pas protégée. Ce sont généralement des fromages faits à partir de lait pasteurisé pour lesquels on utilise souvent le même mélange de bactéries lactiques (ferments). À part leur taille, il est souvent bien difficile de les distinguer sur le plan gustatif.

stabilisée, le fromager s'assure de ralentir l'acidification du caillé. Le pH du fromage est plus élevé et la teneur en minéraux (calcium) est légèrement supérieure, à comparer à un camembert classique. La pâte stabilisée donne un fromage moins coulant que la pâte traditionnelle, ce qui peut rendre les fromages stabilisés plus attrayants pour certains consommateurs.

L'approche polyphasique a permis de mettre en évidence le fait que la flore sur la surface des fromages à pâte traditionnelle est caractérisée par la présence de *Geotrichum sp.* tandis que celle des fromages à pâte stabilisée est dominée par *Penicillium sp.* La flore fongique du cœur des fromages est aussi distincte chez les deux types de

fromages. La différence entre le pH des fromages traditionnels et stabilisés (4,6 et 5,1 respectivement) est probablement une cause de cette modification des flores du cœur. Enfin, cette approche permet de détecter la présence d'une flore de contamination associée aux différentes conditions d'affinage.

le
producteur
de
LAIT
québécois

LA FABRICATION DU FROMAGE ET LA FLORE FONGIQUE

En général, la flore de surface, nécessaire à l'affinage, peut être soit pulvérisée sur les faces du fromage après le saumurage ou directement inoculée dans le lait de fromagerie comme pour les ferments lactiques, eux aussi nécessaires à la fabrication du fromage. L'élaboration de l'aspect, de la texture, du goût et des arômes caractéristiques des fromages repose le plus souvent sur l'activité des microorganismes. Pour un fromage comme le cheddar, les bactéries lactiques sont les seuls agents responsables de l'affinage. Pour un fromage de type camembert, d'autres microorganismes sont typiques de la phase de maturation. En effet, la flore d'affinage est composée de levures, de moisissures et de bactéries. Souvent, la surface des fromages est recouverte de la moisissure *Penicillium camemberti*, des levures *Kluyveromyces lactis* et *Geotrichum candidum* ainsi que de la bactérie *Brevibacterium aurantiacum* ou *B. linens*.

Lors de l'affinage, les fromages subissent plusieurs changements physicochimiques consécutifs dus à l'activité métabolique des flores d'affinage. Les levures (*Torula*, *Debaryomyces hansenii*, *Geotrichum candidum*) et les moisissures (*Penicillium camemberti*) vont neutraliser la surface du caillé en métabolisant l'acide lactique et en produisant de l'ammoniac. Le pH passera en surface d'une valeur de 4,8 à près de 6,4. Cette neutralisation permet à d'autres microorganismes comme *Brevibacterium aurantiacum* ou *B. linens*, plus sensibles à l'acidité, de s'implanter à leur tour. Le cœur du fromage est composé principalement de bactéries et de levures (*Kluyveromyces* et *Saccharomyces*) parce que la concentration en oxygène est plus faible et que le pH est plus acide. Les flores d'affinage sont responsables de la protéolyse et de la lipolyse (décomposition des protéines et des lipides) du caillé qui conduisent à l'apparition de la flaveur.

Au cours de l'affinage, les fromages peuvent subir une contamination provenant de l'air, du lait, des équipements, du personnel de fromagerie ou de la saumure. La flore contaminante du camembert peut provoquer l'apparition de défauts esthétiques et de saveurs indésirables. Par exemple, le « poil de chat » parfois observé sur les fromages découle du développement de moisissures de type *Mucor*. La moisissure *Cladosporium* est un contaminant aéroporté pouvant provenir des courants d'air extérieurs, des systèmes de ventilation ou de niches humides à l'intérieur des chambres de maturation. La moisissure *Penicillium roqueforti* est désirable dans un fromage bleu, mais c'est un contaminant du camembert puisqu'elle produit un goût et une couleur caractéristiques. Il devient donc souhaitable de déterminer le profil microbiologique des fromages, ou leur profilage, afin de s'assurer de l'absence de contaminants. Toutefois, l'utilisation des méthodes microbiologiques traditionnelles pour la détection et l'identification des levures et moisissures est fastidieuse. Elles requièrent l'isolement de chaque microorganisme, et la croissance de certaines moisissures est très lente. Heureusement, la microbiologie a évolué et les chercheurs disposent maintenant de nouvelles méthodes pour enquêter sur les accidents qui peuvent se produire durant la fabrication et l'affinage des fromages.

VÉRIFIER LA CONFORMITÉ DES FROMAGES EN COURS D'AFFINAGE

Cette étude a permis de mettre au point des techniques moléculaires permettant le suivi des flores fongiques au cours d'une maturation fromagère sans mise en culture. La combinaison de différentes méthodes de biologie moléculaire permet de déterminer la diversité des flores fongiques associées au fromage camembert. Du point de vue pratique, les techniques peuvent être appliquées en industrie afin de permettre la détection rapide de contaminants ou de vérifier la conformité des lots. La détermination des microorganismes responsables du bon ou du mauvais goût d'un fromage pourrait aussi être réalisée avec cette approche de profilage. ■

