

● RÉSUMÉ DU PROJET

À l'échelle industrielle, la production de fromages comme le cheddar, le camembert, la mozzarella et le suisse de qualité constante est la principale préoccupation des fromagers. La compréhension des facteurs causant la variabilité des qualités technologiques et organoleptiques permettrait un meilleur contrôle du produit et limiterait les pertes économiques. Les activités biochimiques et métaboliques des ferments laitiers et des flores secondaires ont un impact sur les qualités organoleptiques des fromages. Afin de répondre au défi d'améliorer la qualité des fromages, la Chaire de recherche industrielle a misé sur le développement d'une approche novatrice pour l'étude de la fabrication et de l'affinage du fromage. D'une part, par l'avancement des connaissances technologiques sur les fromages et, d'autre part, en approfondissant les connaissances sur l'expression du métabolisme microbien associé au fromage par la mise en œuvre d'un champ de recherche basé sur les méthodes « omiques ». La Chaire a ainsi permis de consolider un pôle de compétences et de connaissances sur le fromage et les cultures bactériennes et fongiques en plus de former de futurs professionnels hautement qualifiés qui assureront la relève dans l'industrie et en recherche. Les principaux résultats ont été l'obtention du profil typologique de quatre types de fromages lors de l'affinage afin de mieux comprendre les relations directes entre la composition du fromage et ses propriétés finales, de même qu'une analyse poussée de l'évolution des diverses espèces microbiennes présentes dans les fromages lors de la maturation pour bien appréhender leurs contribution au cours de la maturation des fromages cheddar et camembert. Ces informations seront utiles pour guider les industriels laitiers dans le contrôle des effets des diverses communautés microbiennes sur les caractéristiques organoleptiques du produit fini.

● OBJECTIFS ET MÉTHODOLOGIE

Le premier objectif de la Chaire était de déterminer la relation entre la composition minérale des fromages et leur profil typologique durant la maturation. Deux projets ont permis d'atteindre cet objectif, l'un ciblant des fromages commercialisés de qualité élevée (mozzarella, le cheddar, l'emmental et le camembert) ayant une composition minérale standard et l'autre ciblant la réduction de sel de la mozzarella.

1. Étude de la relation entre la composition minérale, les propriétés rhéologiques et la nature des interactions chimiques dans différents types de fromage produits au Canada (cheddar, emmental, mozzarella et camembert analysés à différents temps d'affinage). La composition globale et minérale du fromage et de sa phase aqueuse extraite à l'aide d'une presse a été faite, de même qu'une mesure de la capacité tampon des fromages.
2. Production d'un fromage mozzarella hyposodique. Pour quantifier l'impact de la réduction du NaCl et sa substitution par du KCl et du MgCl₂, du fromage mozzarella été produit et soumis à douze conditions salines. La composition, l'évolution du pH et des populations bactériennes, l'étalement à la fonte et la fermeté du fromage frais et fondu ont été déterminées au centre et en bordure du fromage après 7 et 14 jours d'entreposage. Des analyses sensorielles ont aussi été faites sur les fromages seuls et sur des pizzas.

Le deuxième objectif de la Chaire était de déterminer l'influence des ferments et des flores indigènes (diversité et dynamique) et de l'expression de leurs gènes sur les caractéristiques technologiques et sensorielles des fromages. Cet objectif était divisé en trois volets : diversité, dynamique et expression des gènes du microbiote.

1. Développement d'une approche polyphasique pour la détermination du profil des communautés fongiques du camembert. L'Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis (ARISA) et la Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) ont été adaptées et comparées.

2. Analyse de l'activité de la microflore de surface du fromage camembert en cours d'affinage. Une méthode de quantification par PCR en temps réel (qPCR) a été mise au point afin de suivre une population mixte contenant les microorganismes fongiques les plus communément utilisés en fabrication de fromage camembert : *Penicillium camemberti*, *Geotrichum candidum*, *Debaryomyces hansenii* et *Kluyveromyces lactis*.
3. Utilisation de biomarqueurs spécifiques pour quantifier deux souches de lactocoques sur cultures mixtes vs cultures pures par RT-qPCR, de même que pour comparer les réponses métaboliques pour chaque souche en cultures mixtes.
4. Analyse de la diversité des souches de *L. lactis* ssp. *cremoris* et de leur activité métabolique en fabrication du fromage cheddar. L'analyse des profils génomiques et transcriptomiques de cinq souches de référence de *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* au cours d'une simulation des conditions de fabrication du fromage cheddar à l'aide d'une puce à ADN unique a été effectuée. Ceci a permis d'identifier des biomarqueurs moléculaires qui ont été ensuite quantifiés par RT-qPCR.
5. Étude de la contribution des populations bactériennes actives du fromage cheddar en cours de maturation. La quantification de l'abondance (ADN) et de l'activité (ARN) des lactobacilles par rapport à celles des lactocoques pendant la maturation en fonction du traitement thermique du lait (pasteurisation ou thermisation) et de la température d'affinage (4, 7 ou 12 °C) a été réalisée par qPCR. Un nouveau concept d'étude des cultures mixtes basé sur l'analyse à haut débit par RT-qPCR a aussi été développé pour quantifier l'expression de gènes reliés à la flaveur, communs ou spécifiques à *L. lactis* et *Lactobacillus casei*, au cours de conditions simulant la fabrication et la maturation du fromage cheddar. L'étude de la diversité des souches pourra aussi être utilisée pour les relier à leur potentiel technologique en industrie tout en permettant le contrôle de la maturation et la fabrication de fromages optimaux et standardisés.

● RÉSULTATS ET APPLICATIONS

1. Nouvelles connaissances : Meilleure connaissance de la variabilité saisonnière et géographique de la composition du lait qui permettra une meilleure gestion des fabrications fromagères; Meilleure compréhension des performances technologiques des fromages et des paramètres de contrôle possibles; Identification des espèces utiles ou indésirables dans les fromages camembert; Identification des paramètres optimaux d'affinage en comparant l'activité des mycètes face aux changements; Développement des connaissances sur l'évolution de l'activité de la flore microbienne du fromage cheddar pendant la maturation; Amélioration de la sélection d'une combinaison de souches par une prédiction de leur performance sur la qualité du fromage.

2. Applications : Mise en place d'un profil de typicité pour 4 différents types de fromage produits au Québec et et leur évolution durant l'affinage; Production de fromage mozzarella hyposodique ayant les mêmes caractéristiques qu'un fromage mozzarella régulier; Savoir-faire permettant une quantification des mycètes et un suivi de leurs activités métaboliques; Détection des différences entre les communautés fongiques d'un fromage selon le lot, le procédé de fabrication et le temps de maturation; Preuve de concept de l'application des puces à ADN et de la PCR quantitative pour l'étude des différences de performance entre les souches de ferments; Preuve de concept que les méthodes « omiques » permettent de suivre la dynamique de cultures mixtes de ferments ou de flore secondaire.

● TRANSFERT DES RÉSULTATS

Des affiches et des communications orales ont été présentées lors des Colloques STELA (2009, 2011), le Forum Novalait (2006, 2008, 2010, 2012), les congrès FIL Cheese 2008 et 2012 et au Colloque du Club des bactéries lactiques (2009). Cinq étudiantes de 2^{ème} cycle, quatre

étudiantes au 3^{ème} cycle, un stagiaire postdoctoral, 21 stagiaires ou étudiants du 1^{er} cycle et trois professionnels de recherche ont contribué au projet et ont été formés pour assurer la relève en industrie fromagère.

● PARTENAIRES FINANCIERS

Agropur coopérative
Conseil de recherches en sciences naturelles et génie Canada
Damafro inc.
Fromagerie Clément inc.
Groupe Saputo inc.
Les producteurs laitiers du Canada
Parmalat Canada
Novalait inc.

BUDGET TOTAL : 2 125 000 \$

● POINT DE CONTACT

RESPONSABLE DU PROJET :

Denis Roy

Centre de recherche en sciences et technologie du lait (STELA) et Institut des nutraceutiques et des aliments fonctionnels (INAF)
Université Laval
Québec (Québec) G1V 0A6
Téléphone : 418-656-2131, poste 3098
Télécopieur : 418-656-3353
Courriel : Denis.roy@inaf.ulaval.ca

COLLABORATEURS :

Steve Labrie, Gisèle Lapointe, Sylvie Turgeon, Université Laval
Daniel St-Gelais, Agriculture et Agroalimentaire Canada (CRDA)



2750, rue Einstein, bureau 220, Québec (Québec) G1P 4R1
Tél. : 418-527-7947 • Téléc. : 419-527-5957
novalait@novalait.ca • www.novalait.ca