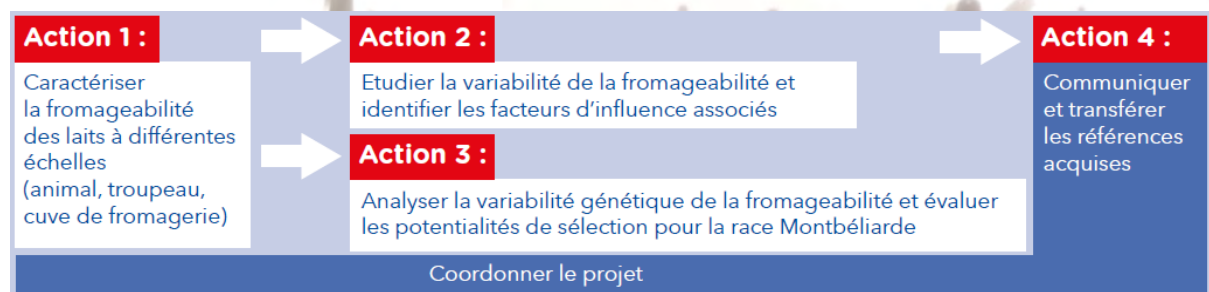


Newsletter FROM'MIR n° 3

Cette newsletter est consacrée à l'état d'avancement et aux premiers résultats de l'action 1. Elle fait également un zoom sur les activités de trois acteurs de FROM'MIR : ACTALIA, INRA-URTAL et ISBA, partenaires de l'Unité Mixte Technologique (UMT) « TechnoFrom » de Poligny.

Rappel des objectifs et de l'organisation de FROM'MIR



Sélection et collecte de laits individuels

La procédure de sélection, les modalités de prélèvement des laits individuels sont détaillés en annexe 1.

250 laits individuels ont été sélectionnés et analysés pour mettre au point les équations d'estimation de la fromageabilité et étudier les liens entre la composition fine du lait et la fromageabilité. Les 570 vaches prélevées dans le cadre du premier volet de l'action 1 (newsletter n°2) ont été utilisées comme base de sélection. Deux critères ont été retenus pour la sélection des vaches : les variants génétiques des lactoprotéines (cf. newsletter n°2), le stade de lactation attendu au moment des collectes. Pour explorer un maximum de variabilité dans la composition des laits, la collecte de laits de vaches porteuses d'allèles de lactoprotéines rares a été priorisée.

Analyses de la fromageabilité des laits selon 3 critères

Le rendement fromager de laboratoire (INRA de Poligny)

Le rendement fromager de laboratoire est apprécié par la mesure du rendement théorique (poids de caillé obtenu par coagulation et centrifugation/ poids de lait) adaptée de la méthode de Hurtaud *et al.* (1995).

Différents modes d'expression du rendement ont été retenus (cf. figure 1).

$$\text{Rendement de Laboratoire Frais (\%)} = \frac{\text{poids Caillé (g)}}{\text{poids Lait (g)}} \times 100$$

$$\text{Rendement de Laboratoire en ES (\%)} = \left(1 - \frac{\text{ES Sérum} \times \text{poids Sérum (g)}}{\text{ES Lait} \times \text{poids Lait (g)}} \right) \times 100$$

$$\text{Rendement de Laboratoire MSU (g MSU/kg Fromage)} = \frac{\text{poids Lait (g)}}{\text{poids Caillé (g)}} \times (\text{TP} + \text{TB}) \text{ (g/kg)}$$

Figure 1 : Modes d'expression du rendement fromager de laboratoire (ES = Extrait Sec ; TP = Taux Protéique ; TB= Taux butyreux ; MSU = Matière Sèche Utile)

L'aptitude à la coagulation (ENILbio de Poligny)

L'aptitude à la coagulation enzymatique est mesurée à l'aide du Formoptic (adapté du Formagraph par Chr Hansen et l'ENILbio pour faciliter l'informatisation des données) selon deux modalités d'emprésurage simulant deux modèles fromagers : pâte pressée cuite (PPC) et pâte molle (PM).

Pour simplifier la lecture, la fermeté mesurée en volts est traduite en Indice de Fermeté (IF) soit 10 fois la valeur initiale en volts. Les paramètres mesurés sont notamment le temps de prise (R) en min, la fermeté du gel à une fois le temps de prise (aR), la fermeté à deux fois le temps de prise (a2R), la vitesse d'organisation du gel (tg10) exprimées en IF.

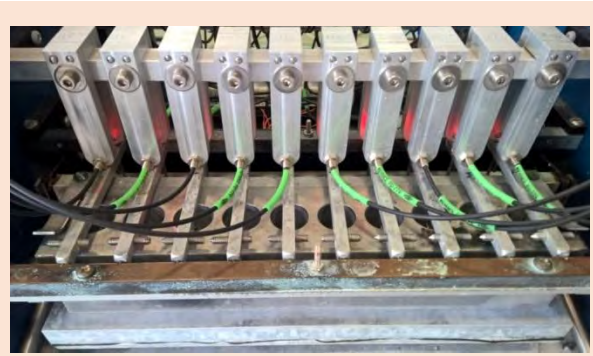


Figure 2 : Le Formoptic permet d'évaluer l'aptitude à la coagulation du lait (10 échantillons à la fois)

L'aptitude à l'acidification (ENILbio de Poligny)

L'aptitude à l'acidification lactique est mesurée à l'aide du CINAC® selon deux modalités simulant les deux modèles fromagers PPC et PM (type de ferments, cycle temps/température). L'acquisition des valeurs pH est réalisée sur 20 h pour enregistrer la courbe du pH en fonction du temps. Des paramètres clés ont été extraits des courbes, ils sont détaillés en annexe 2.



Figure 3 : Aptitude à l'acidification mesurée grâce au CINAC

D'autres analyses ont été effectuées et ne feront pas l'objet de présentation dans cette newsletter (test de lactofermentation, charge microbienne, composition physico-chimique). Elles sont détaillées en annexe 2.

Fromageabilité des laits : résultats

L'analyse descriptive des données a été complétée par des typologies à chaque échelle pour les trois critères de fromageabilité (rendement fromager de laboratoire, aptitude à la coagulation, aptitude à l'acidification) afin de résumer l'information « fromageabilité » de façon qualitative en types (ou classes) de laits. La part de la variance (variabilité) expliquée par la partition (typologie) effectuée est donnée par le R^2 .

Rendements fromagers de laboratoire

Quel que soit le mode d'expression du rendement, on observe une plus grande variabilité des résultats à l'échelle des laits individuels comparée à celles des laits de troupeaux et cuves (cf. figure 4 pour le rendement de laboratoire en frais).

Quelle que soit l'échelle, les typologies distinguent trois classes de laits :
 classe 1 : « rendement + »,
 classe 2 : « rendement moyen »,
 classe 3 : « rendement - » (cf. figure 5 et tableau 2 pour la typologie à l'échelle des laits individuels).

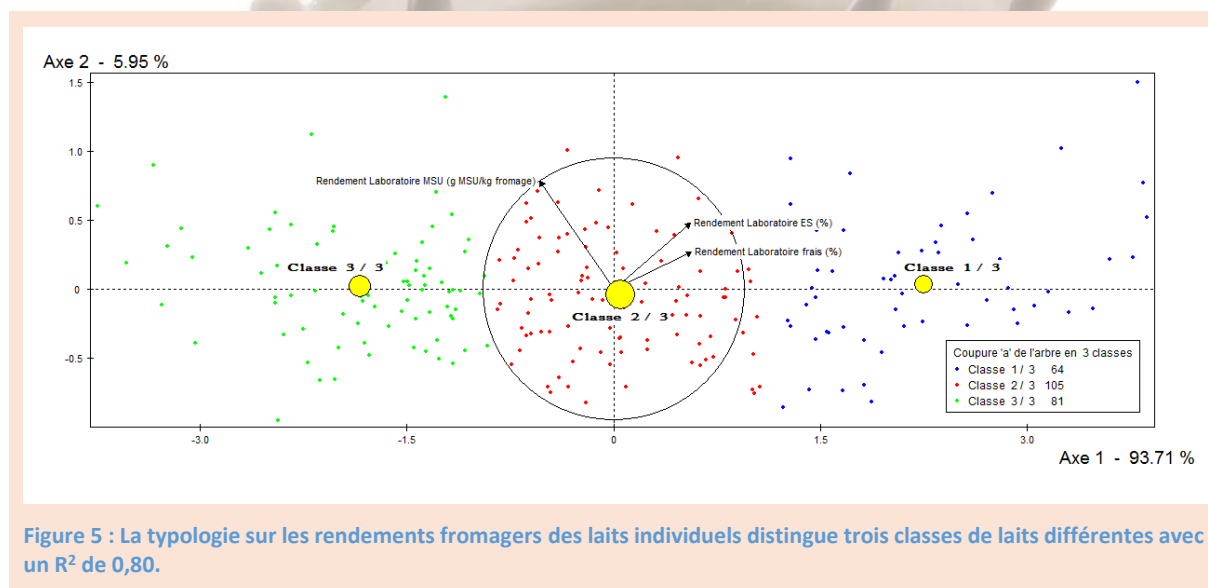
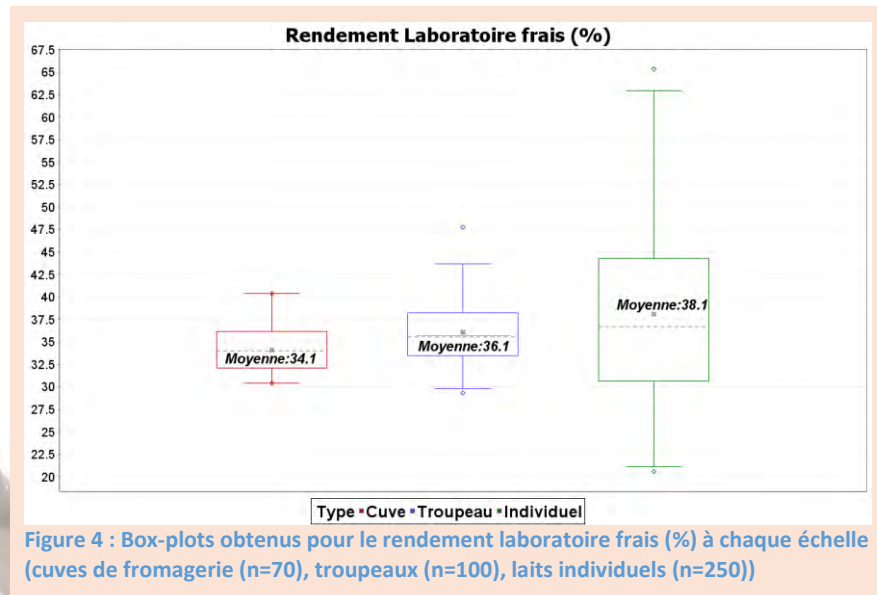


Tableau 2 : Valeurs moyennes et écarts-types (ET) obtenus par classe de laits individuels pour chacun des paramètres de rendements. Les valeurs des paramètres d'une classe significativement différentes de la moyenne générale ($p < 0,05$) sont en rouge.

	Classe 1 (n=64) Rendement +		Classe 2 (n=105) Rendement moyen		Classe 3 (n=81) Rendement -		Ensemble (n=250)	
	Moy	ET	Moy	ET	Moy	ET	Moy	ET
Rendement Laboratoire MSU (g MSU/kg fromage)	158,8	12,3	189,3	13,3	218,7	14,2	191,0	26,3
Rendement Laboratoire frais (%)	50,9	5,1	37,7	3,2	28,2	3,2	38,0	9,3
Rendement Laboratoire ES (%)	75,3	3,3	67,1	2,4	59,6	3,0	66,8	6,6

D'après le tableau 2, il faut 60 g de MSU de plus pour faire 1 kg de fromage avec des laits de la classe 3 (classe « rendement - ») comparativement à ceux de la classe 1 (classe « rendement + ») ce qui traduit des écarts importants entre les classes.

Aptitude à la coagulation enzymatique

En modèle pâte molle

Une plus grande variabilité des résultats est observée à l'échelle des laits individuels par rapport aux laits de mélange (troupeaux ou cuves) (cf. annexe 3).

La typologie sur laits individuels met en évidence 4 classes de laits (figure 6) avec un R^2 de 0,71. La classe 2 (classe « aptitude à la coagulation PM ++ ») contient 6 laits qui se caractérisent par une prise très rapide, des gels qui s'organisent vite et sont très fermes. Ces 6 laits sont des laits très riches (matière azotée, minéraux et matière grasse).

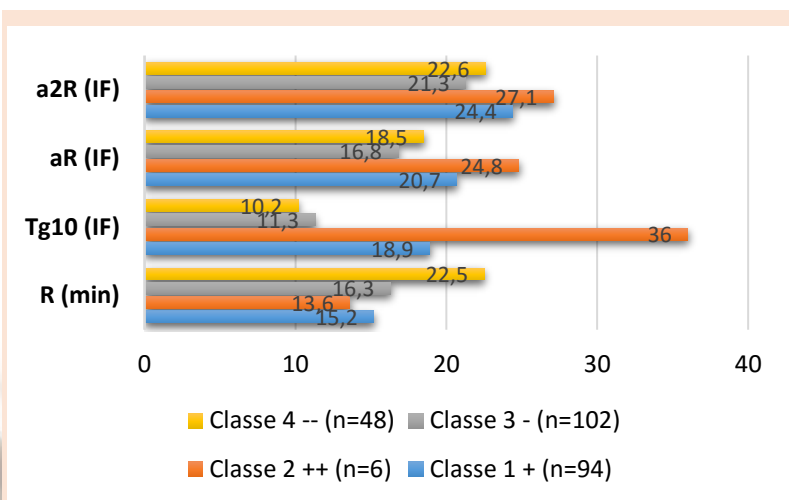


Figure 6 : Valeurs moyennes pour a2R, aR, Tg10 en IF et R en min dans chaque classe de la typologie des laits individuels (n=250) en modèle PM

L'écart moyen de temps de prise entre la classe 1 (classe « aptitude à la coagulation + ») et la classe 4 (classe « aptitude à la coagulation - - ») est de 7 min et les gels obtenus avec les laits de la classe 1 s'organisent quasiment deux fois plus vite et ont une fermeté plus importante (+ 10%) que ceux des laits de la classe 4.

En modèle pâte pressée cuite

On observe toujours une plus grande variabilité des résultats à l'échelle des laits individuels par rapport aux laits de mélange (troupeaux ou cuves) (cf. annexe 3). La typologie sur les laits de cuve permet néanmoins de distinguer 3 classes de laits sur leur aptitude à la coagulation enzymatique (figure 7).

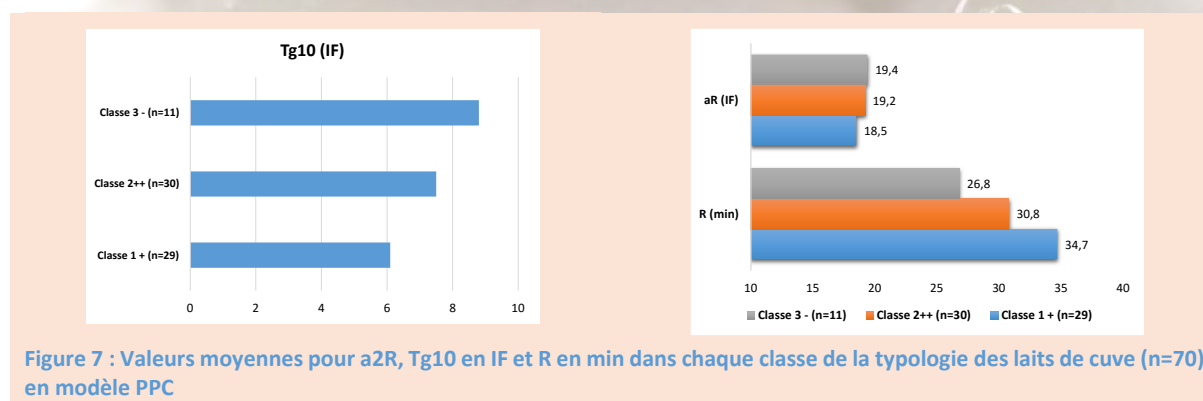


Figure 7 : Valeurs moyennes pour a2R, Tg10 en IF et R en min dans chaque classe de la typologie des laits de cuve (n=70) en modèle PPC

Aptitude à l'acidification

En modèle pâte molle

La typologie d'aptitude des laits à l'acidification a été réalisée à partir de paramètres décrivant les courbes de cinétique d'acidification au CINAC.

Les courbes moyennes d'acidification par classe sont présentées pour chaque échelle figure 8.

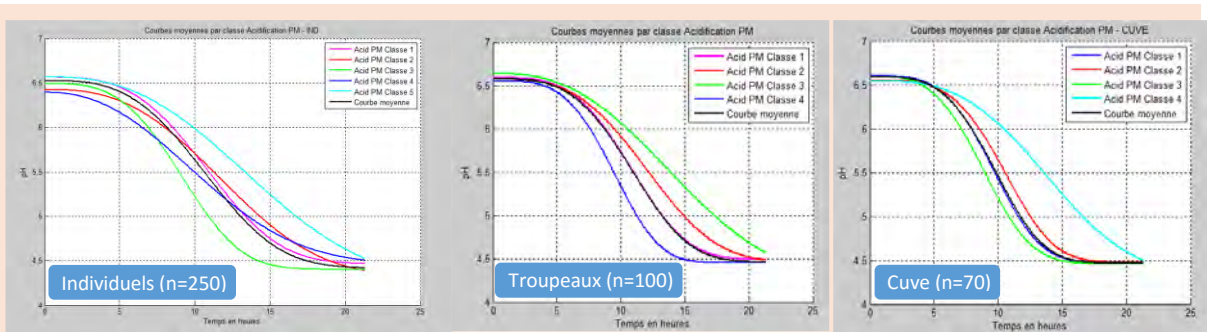


Figure 8 : Courbes moyennes d'acidification par classe en modèle PM pour chaque échelle (laits individuels (n=250), troupeaux (n=100), cuves (n=70))

De la même façon que pour les autres critères de fromageabilité, la variabilité est très importante à l'échelle des laits individuels.

En modèle pâte pressée cuite

Une typologie des cinétiques d'acidification obtenues a été effectuée en prenant en compte les critères clés extraits des courbes d'acidification. Les courbes moyennes d'acidification par classe et par échelle sont présentées figure 9.

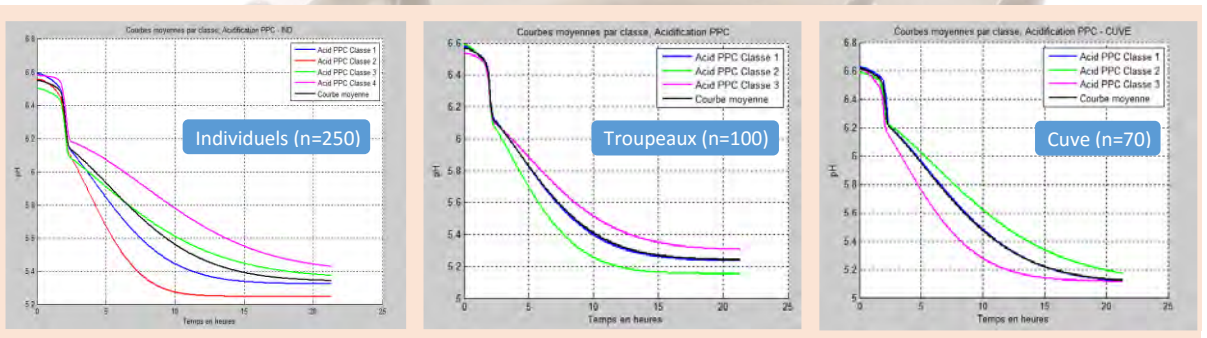


Figure 9 : Courbes moyennes d'acidification par classe en modèle PPC pour chaque échelle (laits individuels (n=250), troupeaux (n=100), cuves (n=70))

Zoom sur les activités de partenaires de FROM'MIR : l'UMT TechnoFrom

Présentation de l'UMT

Le partenariat

L'UMT TechnoFrom « Maîtrise de la qualité des fromages : impact des pratiques de transformation avant l'affinage » rassemble l'INRA-URTAL, ACTALIA et un établissement de formation : l'ISBA (ENILBIO de Poligny et ENIL de Mamirolle). L'UMT mobilise environ 10 ETP, répartis entre les 3 partenaires, avec des équipements importants au niveau analytique, de mise en œuvre de fabrications expérimentales et/ou à l'échelle pilote. L'INRA vient de changer de locaux et dispose d'une plateforme pour mettre en œuvre des mini-fabrications.



Figure 8 : Les membres de l'UMT TechnoFrom

L'ISBA est dotée d'une vaste halle technologique permettant de travailler toutes les technologies fromagères à l'échelle semi-industrielle. Depuis janvier 2017, l'UMT FROM'CAPT (Cf. présentation ci-après) succède à cette UMT et accueille un nouveau partenaire associé: Femto-ST, expert en systèmes intelligents (fonctionnalisation de surfaces, miniaturisation, capteurs acoustiques et optiques) qui complète les compétences du précédent partenariat.

Les thématiques développées dans TechnoFrom

L'UMT TechnoFrom s'intéressait à l'impact des pratiques de transformation (du lait de cuve jusqu'au démarrage de l'affinage) en lien avec la qualité des fromages commercialisés.

Le programme de travail de l'UMT TechnoFrom (2011-2016) avait pour objectifs généraux :

- acquérir des connaissances scientifiques et technologiques relatives aux mécanismes d'interaction entre le lait, les microorganismes d'intérêt technologique et les procédés technologiques,
- identifier et proposer des leviers technologiques pour maîtriser la qualité des fromages,
- maintenir un espace d'échange et d'informations scientifiques et techniques avec les professionnels des filières fromagères.

Et la nouvelle UMT FROM'CAPT ?

Sa mission est d'être force de propositions et de solutions dans le domaine des outils de mesure en lien avec les problématiques de la transformation laitière pour trouver de nouveaux leviers de compétitivité. Les outils étudiés ont différentes finalités :

- innovations techniques et scientifiques (nouveaux outils, nouveaux capteurs),
- optimisations analytiques (miniaturisation, rapidité de réponse, méthodes non destructives...),
- intégration d'outils en ligne.

Les applications seront diverses : qualité des laits, optimisation des procédés, qualité des produits finis (caractérisation et compréhension des mécanismes). Une vaste enquête nationale sera menée pour identifier les besoins. Un site web dédié aux travaux de l'UMT sera créé. La valorisation comprendra l'élaboration de nouveaux outils analytiques, le dépôt de brevets, la contractualisation de licences d'exploitation.

Les activités de l'UMT dans FROM'MIR

L'UMT intervient de façon importante dans l'action 1 du programme. Les analyses réalisées dans le cadre de FROM'MIR sont détaillées dans le corps ou les annexes de cette newsletter. Les mini-fabrications seront présentées dans une prochaine newsletter. Les personnes impliquées dans FROM'MIR apportent leur expertise fromagère pour la conception des protocoles, le traitement des données, l'aide à l'interprétation des résultats et la synthèse des données.

Contacts : Cécile LAITHIER Institut de l'Elevage cecile.laithier@idele.fr
Valérie WOLF CEL 25-90 valerie.wolf@cel2590.fr

Crédit photos : V. WOLF (CEL 25-90), CTFC, ENILbio

Mise en page : Isabelle GUIGUE, Institut de l'Elevage

PARTENAIRES TECHNIQUES ET FINANCIERS :



Newsletter FROM'MIR n° 3

ANNEXES

Annexe 1 : Sélection et collecte de 250 laits individuels

250 laits individuels ont été sélectionnés pour répondre aux objectifs de l'action 1 -volet c à savoir :

- établir les équations d'estimation de trois critères de fromageabilité des laits (aptitude à l'acidification, aptitude à la coagulation et rendement fromager de laboratoire) à partir du spectre MIR des laits analysés,
- apporter de nouvelles données sur les liens entre la composition physico-chimique des laits et leur aptitude fromagère.

L'objectif était de prélever et analyser 250 laits individuels en 2016. La sélection des vaches a été effectuée fin 2015. Les 570 vaches prélevées dans le cadre du premier volet de l'action 1 (newsletter n°2) ont été utilisées comme base de sélection. Sur ces 570 vaches, 440 étaient encore potentiellement présentes et en lactation dans les élevages au premier semestre 2016. Deux critères ont été retenus pour la sélection des vaches :

- les variants génétiques des lactoprotéines (résultats de l'action 1.a. sur 570 laits présentés dans la newsletter n°2) et pour explorer un maximum de variabilité dans la composition des laits, la collecte de laits de vaches porteuses d'allèles de lactoprotéines rares a été systématisée,
- le stade de lactation attendu aux deux périodes de collectes (hiver et été 2016).

Les laits individuels ont été prélevés de mi-janvier à fin mars et de mi-avril à fin juin de l'année 2016 : 100 à la traite du soir, 100 à la traite du matin et 50 aux deux traites (l'échantillon deux traites était reconstitué en respectant la proportion des volumes de la traite du soir et du matin).

Les laits présentant des taux cellulaires supérieurs à 1 000 000 cellules/mL et des germes totaux > 100 000 UFC/mL ont été considérés comme non conformes et, dans la mesure du possible, de nouveaux prélèvements ont été planifiés. Au final, 246 échantillons conformes ont été retenus (98 laits de la traite du matin, 99 laits de la traite du soir et 49 des deux traites). Ces 246 échantillons ont été complétés par 4 laits individuels prélevés dans le cadre de l'action 1.b.

Annexe 2 : Analyses des laits

Les critères de fromageabilité :

Le rendement fromager de laboratoire (INRA de Poligny)

Le rendement fromager de laboratoire est apprécié par la mesure du rendement théorique (poids de caillé obtenu par coagulation et centrifugation/poids de lait) adapté de la méthode de Hurtaud *et al.* (1995). Une quantité de lait déterminée est coagulée par ajout de présure. Après incubation pendant 1 heure à 32°C, le caillé obtenu est centrifugé puis les poids de caillé et lactosérum sont mesurés afin de déterminer le rendement fromager de laboratoire. Différents modes d'expression du rendement ont été retenus (cf. figure 1).

$$\begin{aligned} \text{Rendement de Laboratoire Frais (\%)} &= \frac{\text{poids Caillé (g)}}{\text{poids Lait (g)}} \times 100 \\ \text{Rendement de Laboratoire en ES (\%)} &= \left(1 - \frac{\text{ES Sérum} \times \text{poids Sérum (g)}}{\text{ES Lait} \times \text{poids Lait (g)}}\right) \times 100 \\ \text{Rendement de Laboratoire MSU (g MSU/kg Fromage)} &= \frac{\text{poids Lait (g)}}{\text{poids Caillé (g)}} \times (\text{TP} + \text{TB}) \text{ (g/kg)} \end{aligned}$$

Figure 1 : Modes d'expression du rendement fromager de laboratoire (ES = Extrait Sec ; MSU = Matière Sèche Utile ; TP = Taux Protéique ; TB = Taux Butyreux)

L'aptitude à la coagulation (ENILbio de Poligny)

L'aptitude à la coagulation enzymatique est mesurée à l'aide du Formoptic (adapté du Formagraph par Chr Hansen et l'ENILbio pour faciliter l'informatisation des données) selon deux modalités d'empr surance simulant deux modèles fromagers : pâte pressée cuite (PPC) et pâte molle (PM). Un pendule plonge dans une cupule remplie de 10 mL de lait emprésuré. Le mouvement du pendule est proportionnel à la fermeté du gel ; il permet de suivre la coagulation du lait. Le Formoptic retranscrit la position du pendule via des récepteurs et transmetteurs optiques à un système informatique qui convertit cette position en volts en fonction du temps.



Figure 2 : Le Formoptic permet d'évaluer l'aptitude à la coagulation du lait (10 échantillons à la fois)

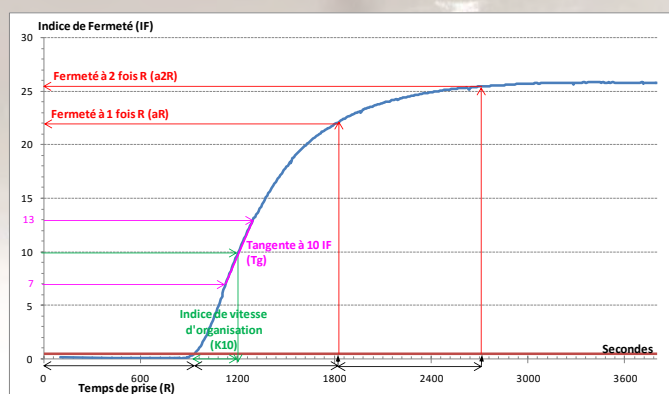


Figure 3 : Paramètres mesurés pour décrire l'aptitude à la coagulation enzymatique du lait

Pour simplifier la lecture, la fermeté mesurée en volts est traduite en Indice de Fermeté (IF) soit 10 fois la valeur initiale en volts. Les paramètres mesurés (cf. figure 3) sont le temps de prise (R) en min, la fermeté du gel à une fois le temps de prise (aR), la fermeté à deux fois le temps de prise (a2R), la tangente à 10 IF ou vitesse d'organisation du gel, le K10 ou temps nécessaire pour obtenir une fermeté de 10 à partir du temps de prise. Ces deux derniers paramètres ont fait l'objet d'un calcul supplémentaire (ratio par rapport au temps de prise R) pour les ramener à même temps de prise.

L'aptitude à l'acidification (ENILbio de Poligny)

L'aptitude à l'acidification lactique est mesurée à l'aide du CINAC® (Figure 4). Chaque échantillon de lait est séparé en 2 lots d'aliquotes. Un premier lot est ensemencé avec une souche de *Lactococcus lactis* (bactérie lactique mésophile) avec un cycle temps/température mimant celui des technologies PM. Le deuxième lot est ensemencé avec une souche de *Streptococcus thermophilus* (bactérie lactique thermophile) avec un cycle temps/température mimant le cycle de fabrication des technologies PPC. L'acquisition des valeurs pH est réalisée sur 20 heures pour enregistrer la courbe du pH en fonction du temps. La Figure 5 présente les types de courbe obtenus en technologie type PM et en technologie type PPC ainsi que les paramètres retenus pour caractériser les courbes de chacune des deux technologies.



Figure 4 : Aptitude à l'acidification mesurée grâce au CINAC®

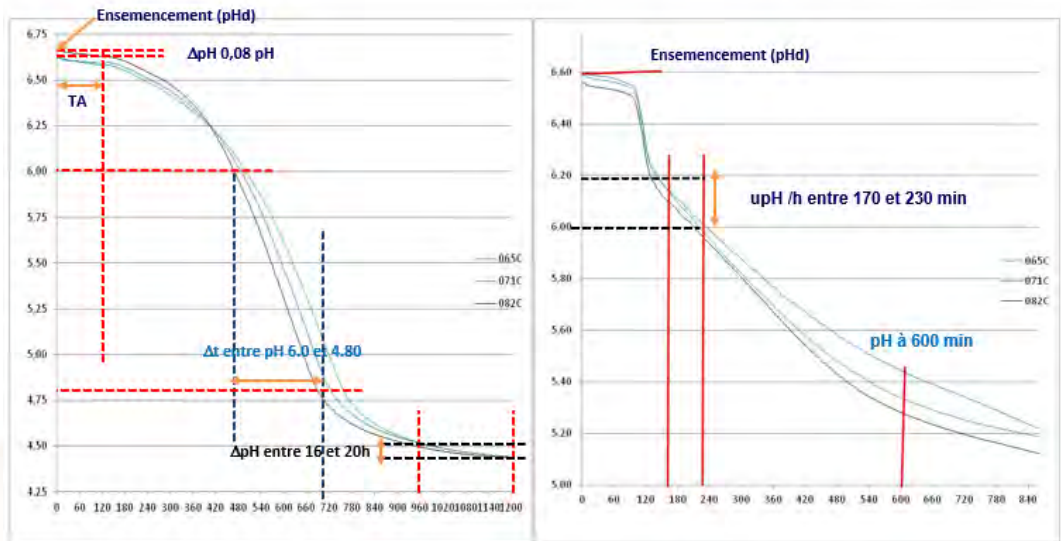


Figure 5 : Paramètres mesurés pour caractériser l'aptitude à l'acidification en technologie type PM ou en technologie type PPC

Le test de lactofermentation

Ce test donne une indication de la fromageabilité liée globalement à la microflore et la physico-chimie du lait. Ce test est utilisé dans les filières fromagères franc-comtoises. Les échantillons de lait sont incubés pendant 24h à 37°C, à l'obscurité. Après incubation, leur aspect est observé (Liquide, Gélifié, Floconné, Digéré, Gonflé) et le pH mesuré.



Figure 6 : Différents aspects des gels obtenus par lactofermentation (source : CTFC)

Analyses de composition physico-chimique

Le taux protéique (TP), le taux butyreux (TB), les teneurs en lactose et urée sont estimés via les spectres MIR (Norme CNIEL PROC IR 08, Milkoscan Foss) au laboratoire LACOLAIT. Le comptage cellulaire des laits est réalisé sur les mêmes échantillons par analyse colorimétrique (Fossomatic).

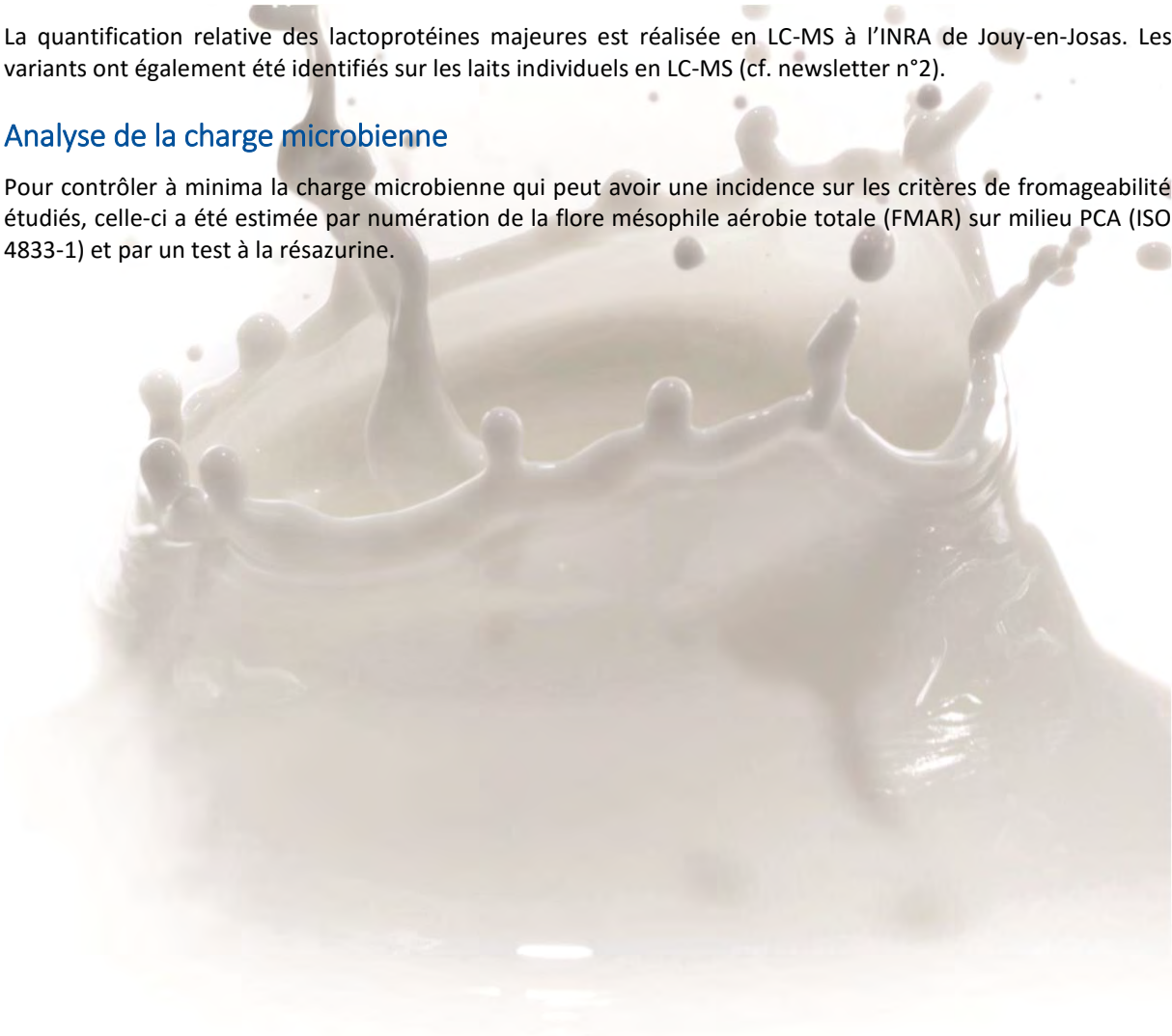
Le pH et la taille des micelles (appareil Zetasizer Malvern-Nano ZS90) ont été mesurés à l'INRA de Poligny.

L'acidité Dornic (Norme NF V04-206), les fractions azotées (azote total : NF EN ISO 8968 ; azote soluble : FIL-IDF 29-1 : 2004) et les teneurs en phosphore, calcium et sodium ont été mesurées par ACTALIA. Les teneurs en phosphore sont analysées par spectrométrie d'absorption moléculaire (Norme ISO 9874) et les teneurs en calcium et sodium par spectrométrie d'absorption atomique (Norme ISO 8070).

La quantification relative des lactoprotéines majeures est réalisée en LC-MS à l'INRA de Jouy-en-Josas. Les variants ont également été identifiés sur les laits individuels en LC-MS (cf. newsletter n°2).

Analyse de la charge microbienne

Pour contrôler à minima la charge microbienne qui peut avoir une incidence sur les critères de fromageabilité étudiés, celle-ci a été estimée par numération de la flore mésophile aérobie totale (FMAR) sur milieu PCA (ISO 4833-1) et par un test à la résazurine.



Annexe 3 : Analyse descriptive des résultats d'aptitude à la coagulation enzymatique des laits

Quelle que soit la technologie, on observe une plus grande variabilité des résultats à l'échelle des laits individuels comparée à celles des laits de mélange (laits de troupeaux ou de cuves de fromagerie).

En pâte molle

Les résultats de temps de prise (R), de fermeté une fois le temps de prise (aR) et de vitesse d'organisation du gel ramenée au même temps de prise (Tg10/R) sont présentés sous forme de Box-plots (Figure 8).

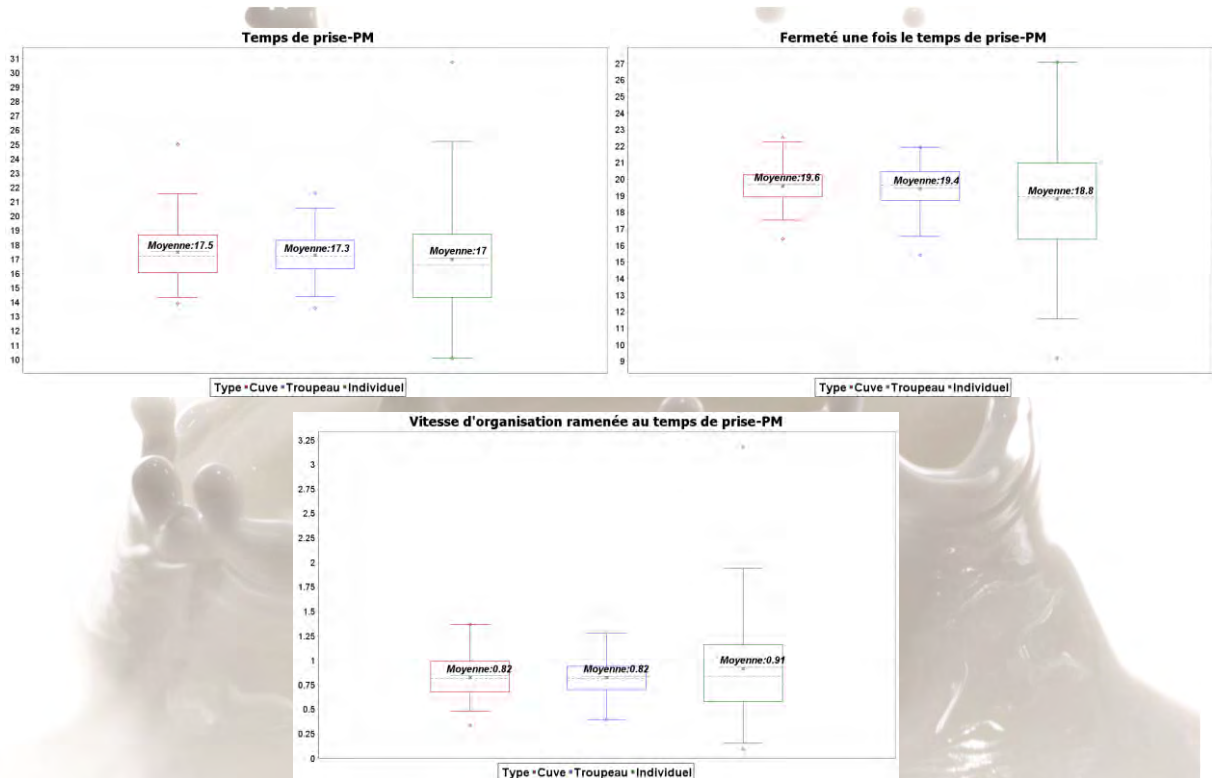


Figure 8 : Box-plots obtenus en technologie type PM pour les paramètres R, aR et Tg10/R à chaque échelle (cuves de fromagerie (n=70), troupeaux (n=100), laits individuels (n=250))

En pâte pressée cuite

Les résultats d'aptitude à la coagulation en technologie PPC pour les critères R de temps de prise (R), de fermeté à une fois le temps de prise (aR) et de vitesse d'organisation du gel ramenée au même temps de prise (Tg10/R) sont présentés sous forme de box-plots (Figure 9).

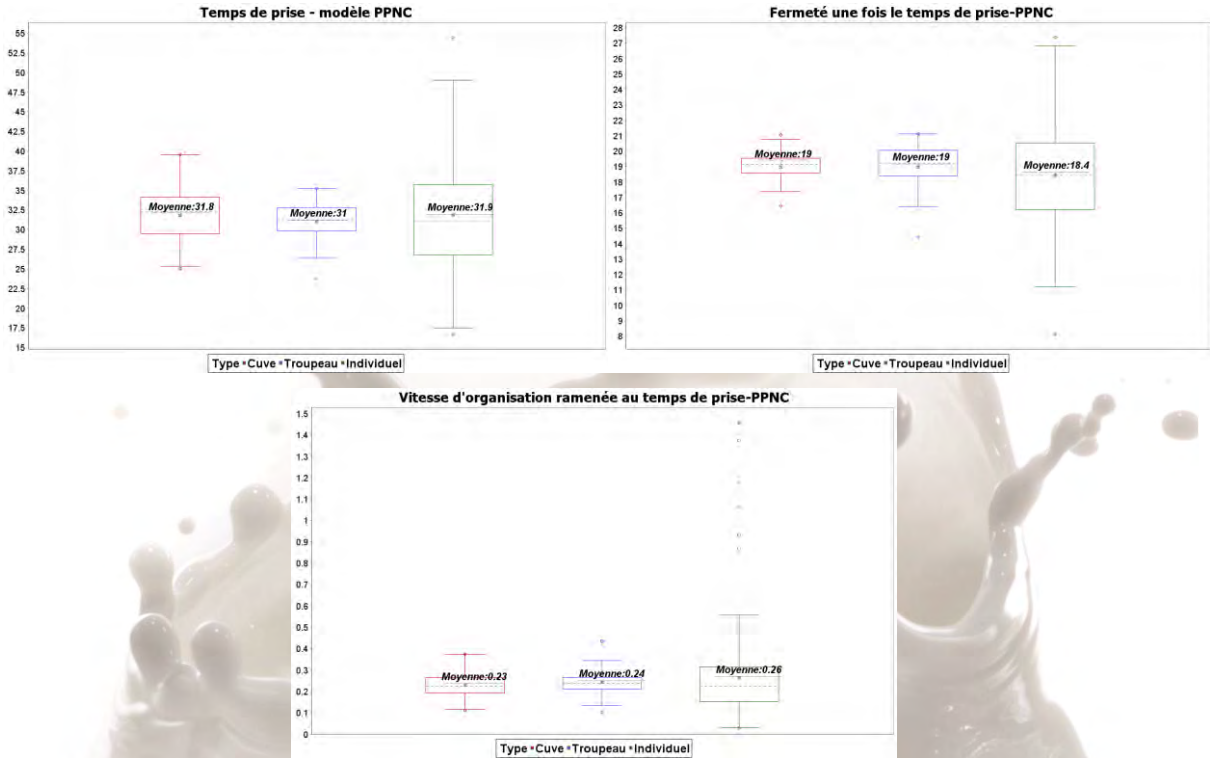


Figure 9 : Box-plots obtenus en type technologie PPC pour les caractéristiques R, aR et Tg10/R à chaque échelle (cuves de fromagerie (n=70), troupeaux (n=100), laits individuels (n=250))

Contacts : Cécile LAITHIER Institut de l'Elevage cecile.laithier@idele.fr
Valérie WOLF CEL 25-90 valerie.wolf@cel2590.fr

Crédit photos : V. WOLF (CEL 25-90), CTFC, ENILbio

Mise en page : Isabelle GUIGUE, Institut de l'Elevage

PARTENAIRES TECHNIQUES ET FINANCIERS :

