

# La biodiversité des ferments au service de l'innovation alimentaire

► Jeudi 25 juin 2015



# L'emballage: une contrainte ou une innovation pour les fromages?

## Exemple d'un fromage AOP à pâte persillée

Daniel Picque<sup>1</sup>, Perrine Duval<sup>1,2</sup>, Caroline Chauvin<sup>3</sup>, Marie Christine Montel<sup>2</sup>

<sup>1</sup> INRA, UMR Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires, 78850 Thiverval Grignon

<sup>2</sup> INRA, U Recherche Fromagère, 15000 Aurillac

<sup>3</sup> Pôle Fromager AOC Massif Central, 15000 Aurillac

# Pourquoi associer fromage et emballage?

- Répondre aux exigences du marché, tendance à la distribution en libre service (59% des fromages AOP en 2012)
- Attrait supplémentaire du produit (nouvelle présentation, information,...)
- Ouverture sur de nouveaux marchés
- Stabiliser, préserver le produit (mécanique, microbiologique)

## L'emballage doit satisfaire

- Le producteur et **le produit** (innocuité, qualité)
- Le distributeur (stockage, manutention, présentation, vente,...)
- Le consommateur (satisfaction par rapport au produit, information,...)
- L'environnement (recyclage, durée de vie)

# Cas particulier des fromages

**Définition Wikipédia :** L'appellation « fromage » (décret du 30/12/88) désigne tout produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir de matières d'origine exclusivement laitière

## Fromages Fondus

produits inertes  
débarassés  
de la flore

Emballage étanche  
(contamination)

Structure multicouche  
feuille aluminium  
Barrière à O<sub>2</sub> et vapeur  
d'eau



## Fromages Frais

Produits contenant  
flore microbienne

Développement de  
la flore ralentie, voir  
stoppée par le froid

Emballage étanche  
Structure  
multicouche  
aluminium papier



## Autres fromages

### Pâtes pressées

Affinage : l'utilisation de film pour  
réguler les échanges gazeux

Commercialisation, conditionnés  
sous atmosphère modifiée qui  
nécessite un emballage étanche.



### Pâtes molles, Pâtes persillées

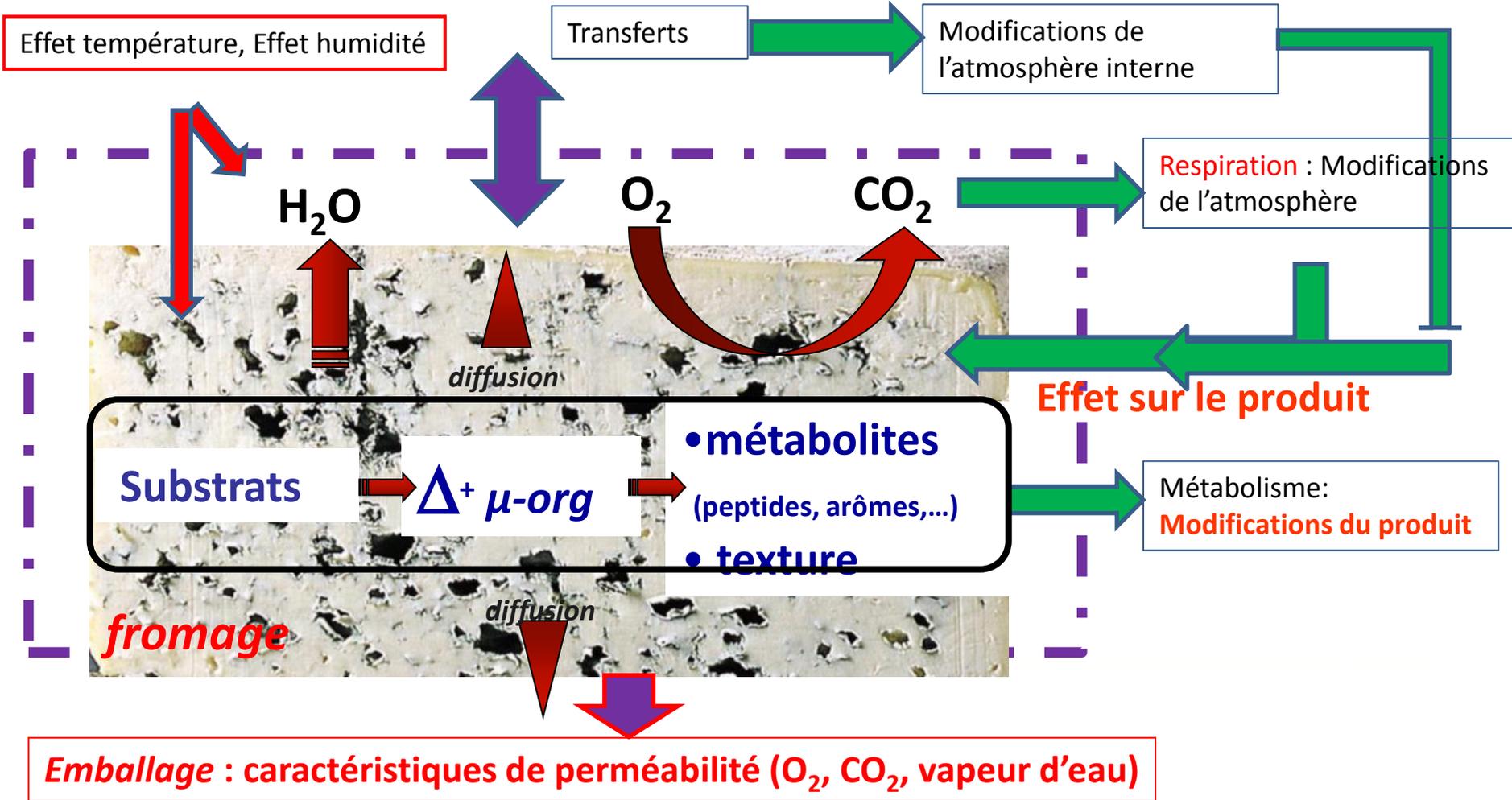
Produits doit continuer à  
s'affiner sous emballage

Emballage: rôle de régulateur  
des échanges entre fromage et  
l'environnement extérieur.

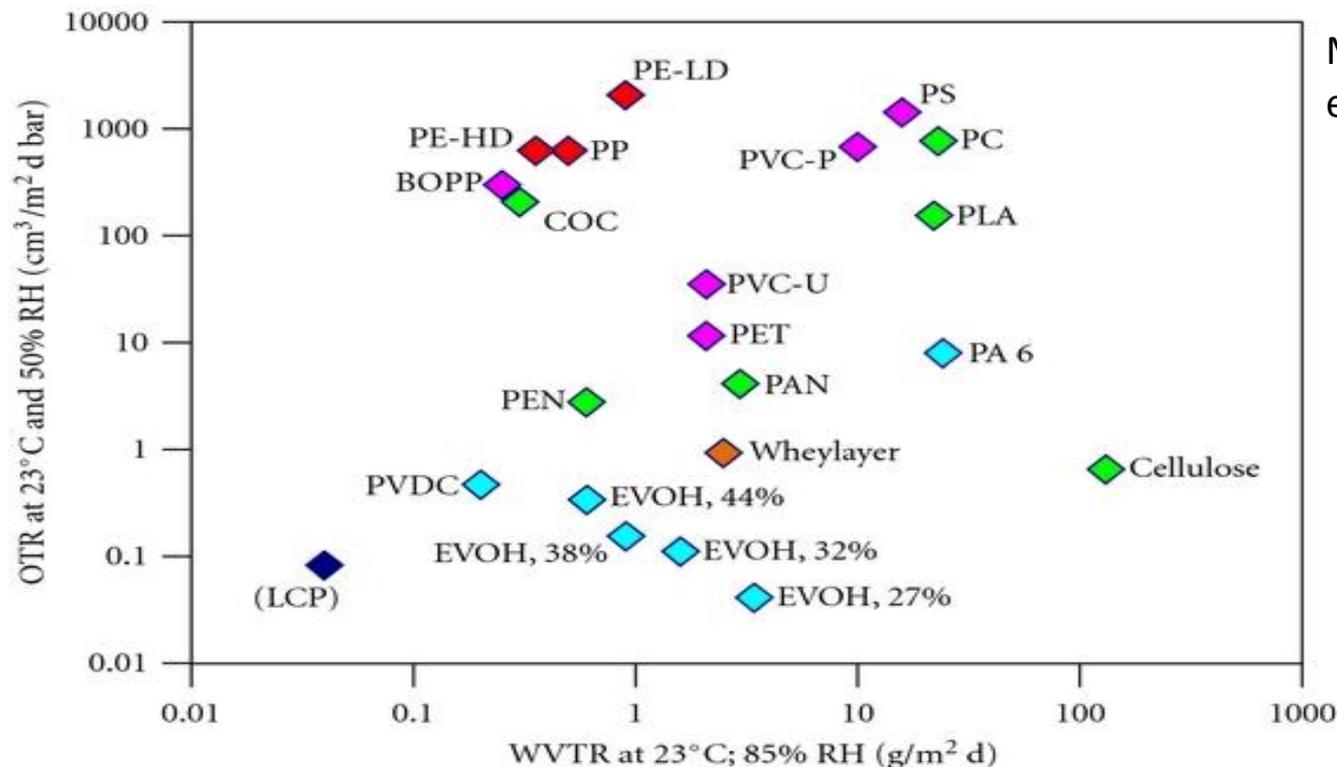
Emballage multicouche

1 fromage – 1 emballage

# Que se passe t il dans l'emballage



# Matériaux disponibles



Matériaux utilisés pour les emballages (Schmid, 2012)

PE polyéthylène, PVC poly vinyl chlorure, EVOH Ethylène Alcool Vinylique, PLA acide Polylactique

# Perméabilité des matériaux utilisés pour l'emballage des fromages

Type de matériaux	Structure	Perméabilité humidité <sup>a</sup>	Perméabilité Oxygène <sup>b</sup>	Perméabilité CO <sub>2</sub> <sup>c</sup>	Perméabilité N <sub>2</sub> <sup>d</sup>	Transmission Lumière
Low-density polyethylene,	Ethylene units; density, 0.917– 0.924 (g. cm <sup>-3</sup> )	1–10 or 10–50	>1,000	130–280	1.9–3.1	65
LDPE Polypropylene, PP	Propylene units	1–10	>1,000	92	4.4	80
Ethylvinyl acetate, EVA	Copolymerization of low-density polyethylene and 1–20% vinyl acetate	10–50	>1,000	–	–	55–75
Polystyrene, PS	Styrene units	>50	>1,000	105	7.8	92
Polyethylene terephthalate, PET	Ethylenglycol and dimethylterephthalate or terephthalate acid	10–50	10–100 or 100–1,000 10–100 when dry	3.0	0.04–0.06	88
Polyamide (nylon), PA	Nylon 6: polymerization of caprolactam	10–50	1–10	0.4–0.8	0.95	88
Polyvinylidene chloride, PVdC (Saran)	Vinyliden units	<1 or 1–10	1–10 or below 75% RH: <1	0.3	0.009	90
Ethylvinyl alcohol, EVOH	Ethylvinyl acetate and methanol	10–50 or >50		27 mol% ethylene: 0.024 and 44 mol% ethylene: 0.012	–	90

<sup>a</sup>Perméabilité (humidité g. m<sup>-2</sup> jour<sup>-1</sup>, 38 °C, 90% RH)

<sup>b</sup>Perméabilité Oxygène (mL. m<sup>-2</sup>.jour<sup>-1</sup>.atm<sup>-1</sup>, 20 °C, 0% RH)

<sup>c</sup>Perméabilité CO<sub>2</sub> (P×10<sup>11</sup> [mL(STP) cm. cm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. (cm Hg)<sup>-1</sup>] at 25 °C)

<sup>d</sup>Perméabilité N<sub>2</sub> (P×10<sup>11</sup> [mL (STP) cm. cm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. (cm Hg)<sup>-1</sup>] at 25 °C)

(Khoshgozaran et al., 2012)

# Exemple de l'importance de l'emballage: Aspect des Fromages

Saint Nectaire



Film étanche



EOM

Perméable à la  
vapeur d'eau



VFC

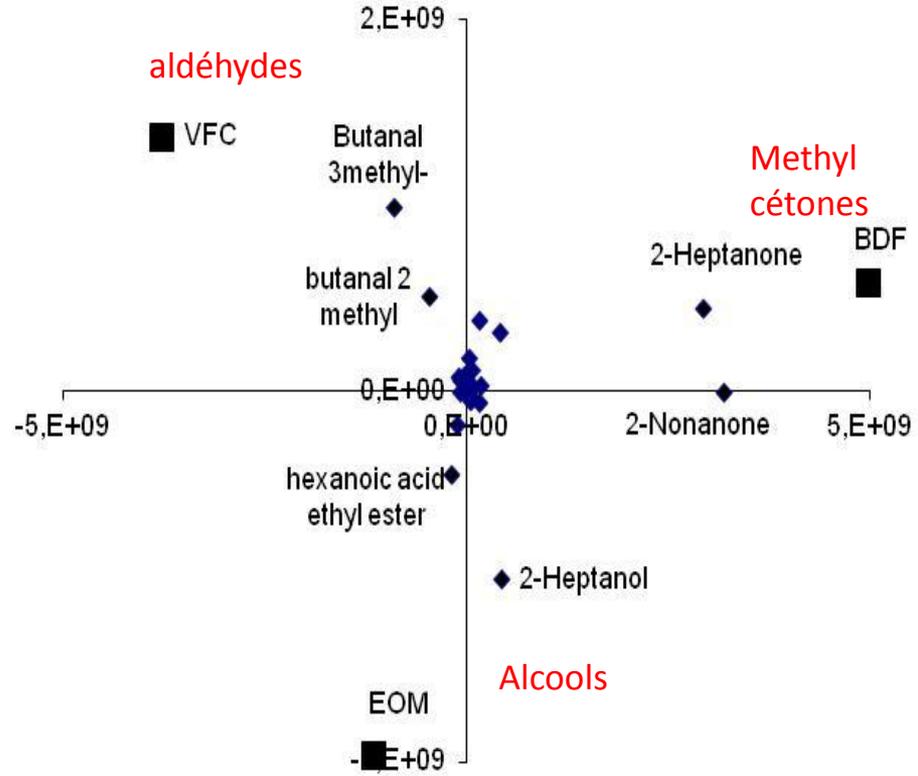
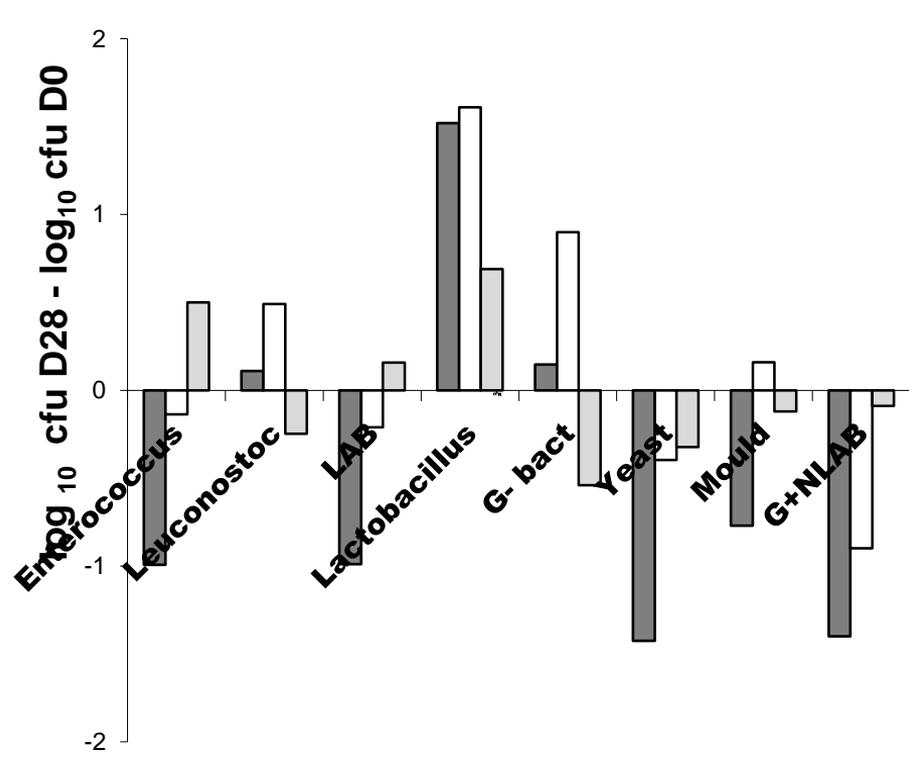
Perméable aux  
gaz



BDF

*croutage à moisissures rases et selon le degré d'affinage, elles sont blanches, brunes ou grises pouvant laisser apparaître un fond de couleur crème à orangé avec présence éventuelle de fleurs jaunes et/ou rouges.*

# Exemple de l'importance de l'emballage: microbiologie et biochimie



Différences d'évolution des niveaux de genres, groupes microbiens et composition en arômes entre J0 et 28 jours d'emballage de fromage Saint Nectaire en fonction du film EOM ■ BDF □, VFC ■

# Fromages à pâte persillée (Bleu d'Auvergne, Fourme d'Ambert)

- Fromages AOP : 70% vendus dans les grandes et moyennes surfaces et plus de 60% en ventes en libre-service → adaptation au marché
- Fromage Bleu d'Auvergne :
  - Evolution du fromage même après emballage
  - Actuellement, principalement emballage en atmosphère sans O<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub>  
→ développement possible de défauts (sérum dans l'emballage, perte de couleur du persillage, amertume, rancidité)
- Besoin d'emballages pour permettre au fromage :
  - d'atteindre les caractéristiques sensorielles désirées
  - de conserver son originalité/caractéristiques sensorielles
  - **Permettre une expression favorable de l'écosystème microbien**

⇒ **Besoin de comprendre phénomènes biologiques des fromages dans l'emballage**

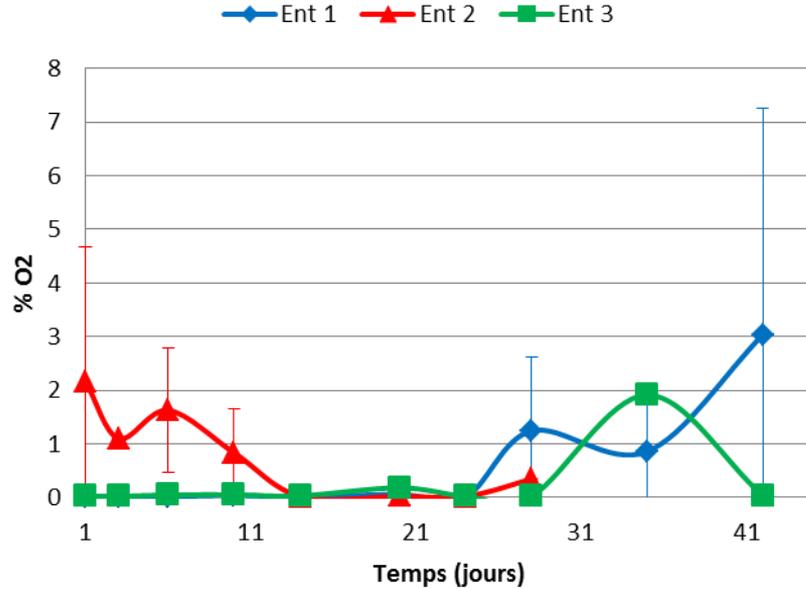
# Caractérisation de l'existant. **Bleus et Fourmes: coques et films divers utilisés**



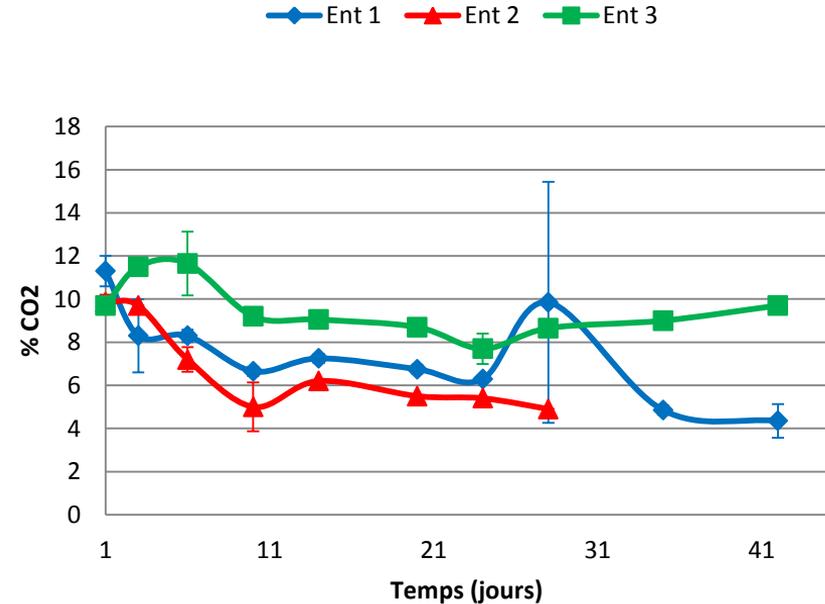
				Bleu d'Auvergne		
				Ent 1	Ent2	Ent 3
<b>Feuille pour coque</b>						
<b>Matériau</b>	PS/PE	PS/PE pelable	PS/PE			
<b>Epaisseur (µm)</b>	400	450	400			
<b>Perméabilité à l'O2 (cm3/m²/24h/bar (ASTM D3985, 20°C, 65% HR))</b>	<b>397</b> (ISO 15105, 23°C, 0% HR)	<b>191</b>	216	Facteur:  2		
<b>Perméabilité au CO2 ( g/m²/24h ( ASTM D3985, 20°C, 65% HR))</b>	Pas de données	1460	1644			
<b>Perméabilité à H2O (g/m²/24h, DIN 53122, 23°C, 85% HR))</b>	<b>4,3</b> (ISO 15106)	<b>0,44</b>	0,5	10		
<b>Film supérieur</b>						
<b>Matériau</b>	PET/PE PEEL RECLOSE	BOPET//PE	BOPP/PE			
<b>Epaisseur (µm)</b>	62	55	80			
<b>Perméabilité à l'O2 (cc/m².24h (23°C, 50% HR))</b>	120	<b>65</b>	<b>855</b>	15		
<b>Perméabilité au CO2 (cc/m².24h (23°C, 50% HR))</b>	Pas de données	325	4275	13		
<b>Perméabilité à H2O (g/m².24h (23°C,0-85% HR))</b>	<b>40 (ASTM F1249)</b>	1,7	<b>0,6</b>	66		

# Caractérisation de l'existant : composition de l'atmosphère des emballages

## Evolution de la teneur en O2



## Evolution de la teneur en CO2



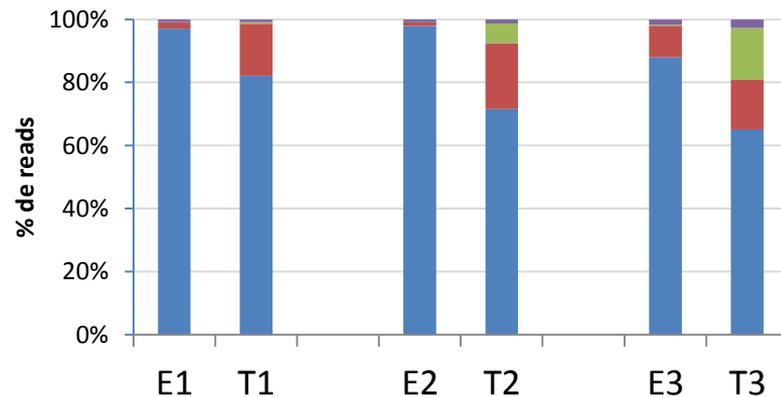
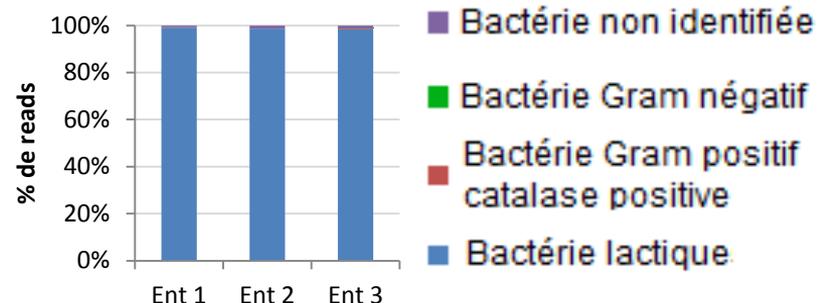
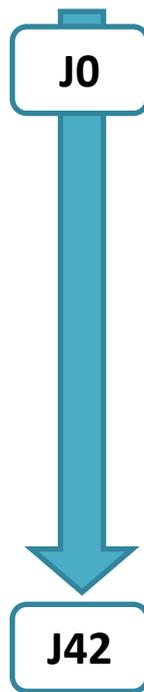
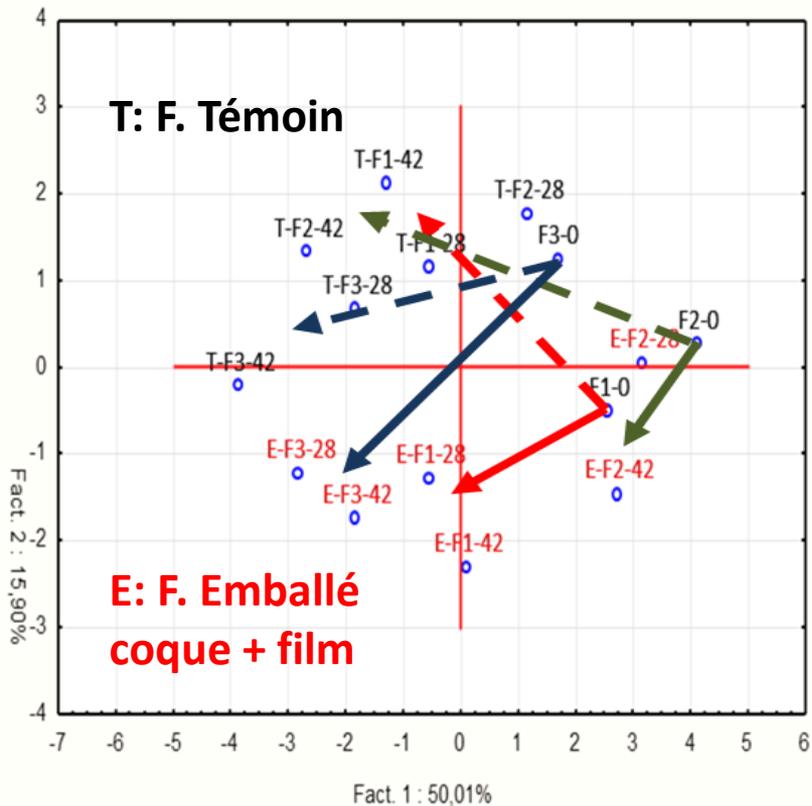
Quel est l'impact de l'atmosphère sur l'évolution du produit

- Évolution microbologique
- Evolution biochimique
- Evolution sensorielle

# Dynamique microbienne des fromages bleus d'auvergne emballés et en pain entier

Projection des ind. sur le plan factoriel ( 1 x 2 )

Observations avec la somme des cosinus carrés >= 0,00



Emballage peu adapté

- A J0, Population dominante = **Bactéries lactiques** (6-8 log)
- A 43 jours : niveau élevé de bactéries **G+ C+** = + fromage emballé ; +++ témoin

# Définir un emballage: DEMARCHE

1. Caractériser le produit: définir l'objectif qualitatif (produit référence)
2. Identifier les besoins du produit pour une évolution satisfaisante
3. Transcrire en indicateurs physiologiques, métaboliques
4. Traduire ces données en propriétés des matériaux (perméabilité)
5. Définir l'emballage en fonction du produit (forme, dimension, praticité, etc...)

Témoin (fromage entier)  
Produit référence



1. Caractériser le produit : définir l'objectif qualitatif (produit référence)

Mis sous aluminium, au réfrigérateur

2. Identifier les besoins du produits pour une évolution satisfaisante. Plan d'expérience



Fabrication 1  
+ affinage

### Dispositif expérimental



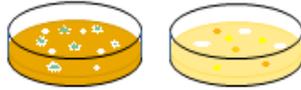
Portion de fromages

	Cellule 1	Cellule 2
% O <sub>2</sub>	0	0
% CO <sub>2</sub>	10	0,5
% HR	92-96%	92-96%
	Cellule 3	Cellule 4
% O <sub>2</sub>	2,5	2,5
% CO <sub>2</sub>	10	0,5
% HR	92-96%	92-96%

# Genres microbiens dans les fromages

## → Dénombrement sur culture

- Flore totale
- Bactéries lactiques (BL)
- Bactéries à Gram positif catalase positive (**G+C+**)

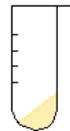


## + séquençage de l'ADN 16S d'isolats

- Bactéries à Gram négatif (G-)
- Levures et moisissures

## → Métagénomique monogénique

- Extraction de l'ADN total des fromages
- Amplification de l'ADN 16S (région V3-V4)
- Séquençage Miseq



## Dispositif analytique



Analyse gazeuse

Biochimique

Analyse sensorielle



Aspect visuel

Odeur

Texture en bouche

Goût

Saveur

# Analyses de gaz dans les emballages

Mesures des teneurs en O<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub> dans les emballages du commerces

## Analyses biochimiques des fromages

- pH
- a<sub>w</sub>
- Extrait sec
- Fractions azotées
- Acides gras libres
- Lactate et acétate
- Composés aromatiques



## Profil descriptif des fromages

### Descripteurs

Aspect visuel

Odeur

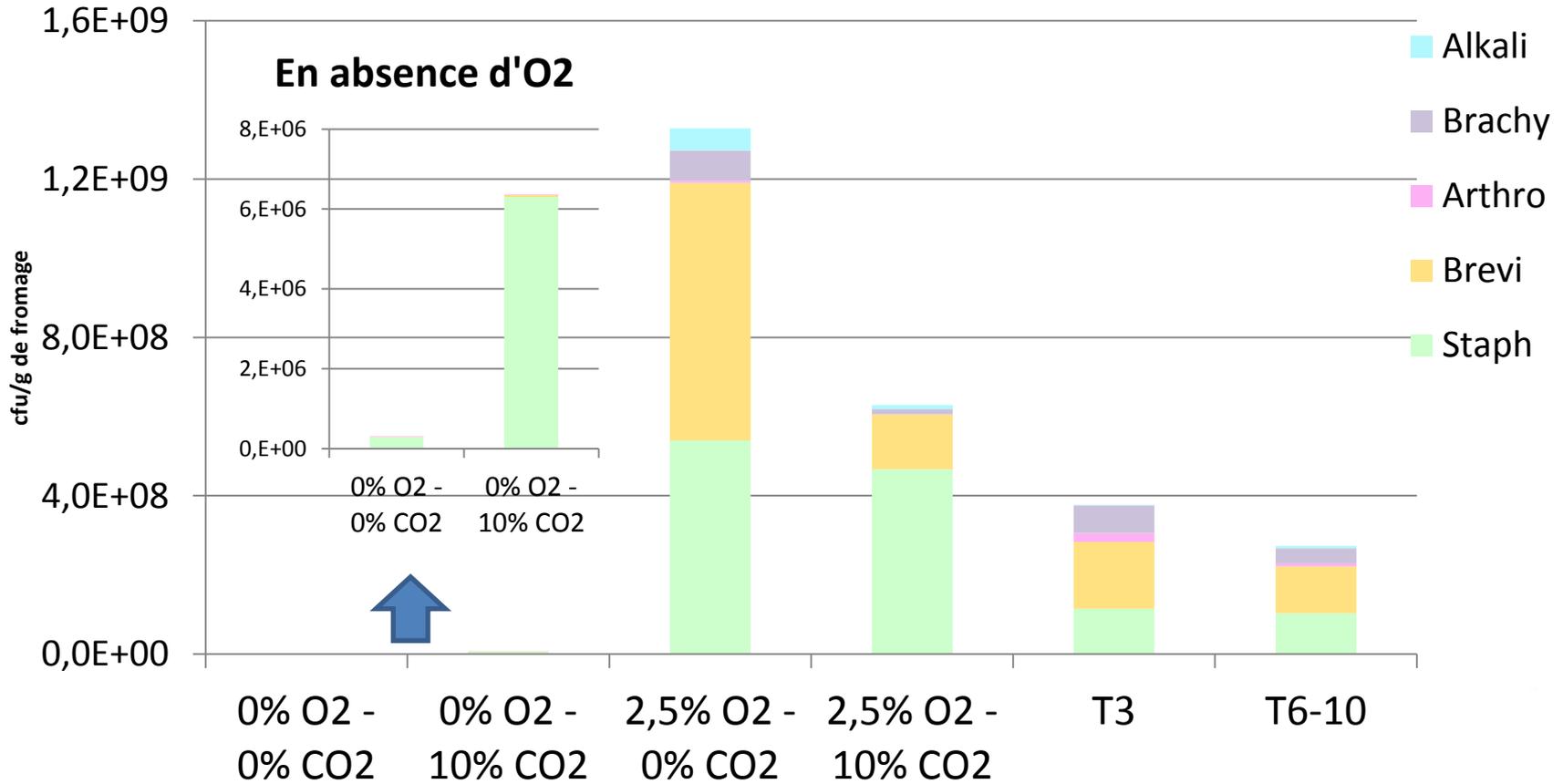
Texture en bouche

Goût

Saveur

# ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

## Abondance et diversité de la flore d'affinage après 41 jours de conservation



# ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

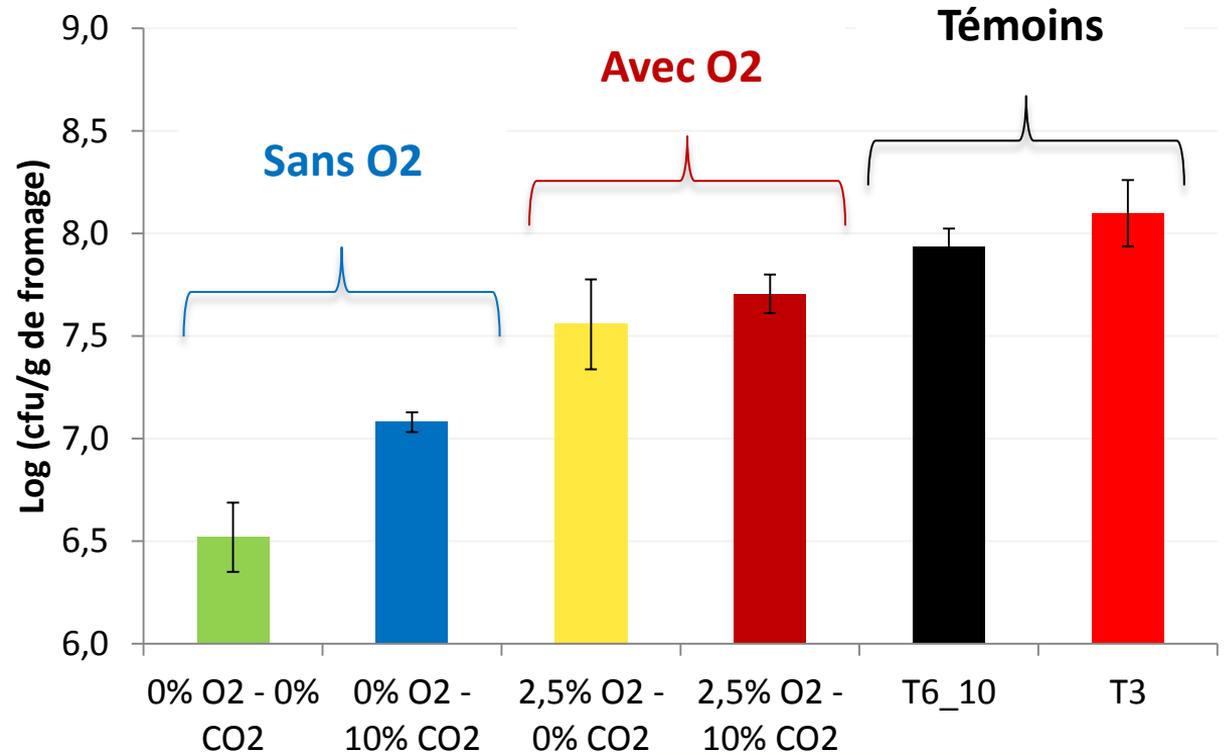
- **En absence d'O<sub>2</sub>** : faible niveau de bactéries d'affinage et dominance de *Staphylococcus*
- **En présence d'O<sub>2</sub>** : Niveau élevé de bactéries d'affinage et diversité d'espèces avec une dominance de *Staphylococcus* et *Brevibacterium* (*atténuée par le CO<sub>2</sub>*)
- **Témoins**: niveaux intermédiaires entre essais en présence et en absence d'O<sub>2</sub>

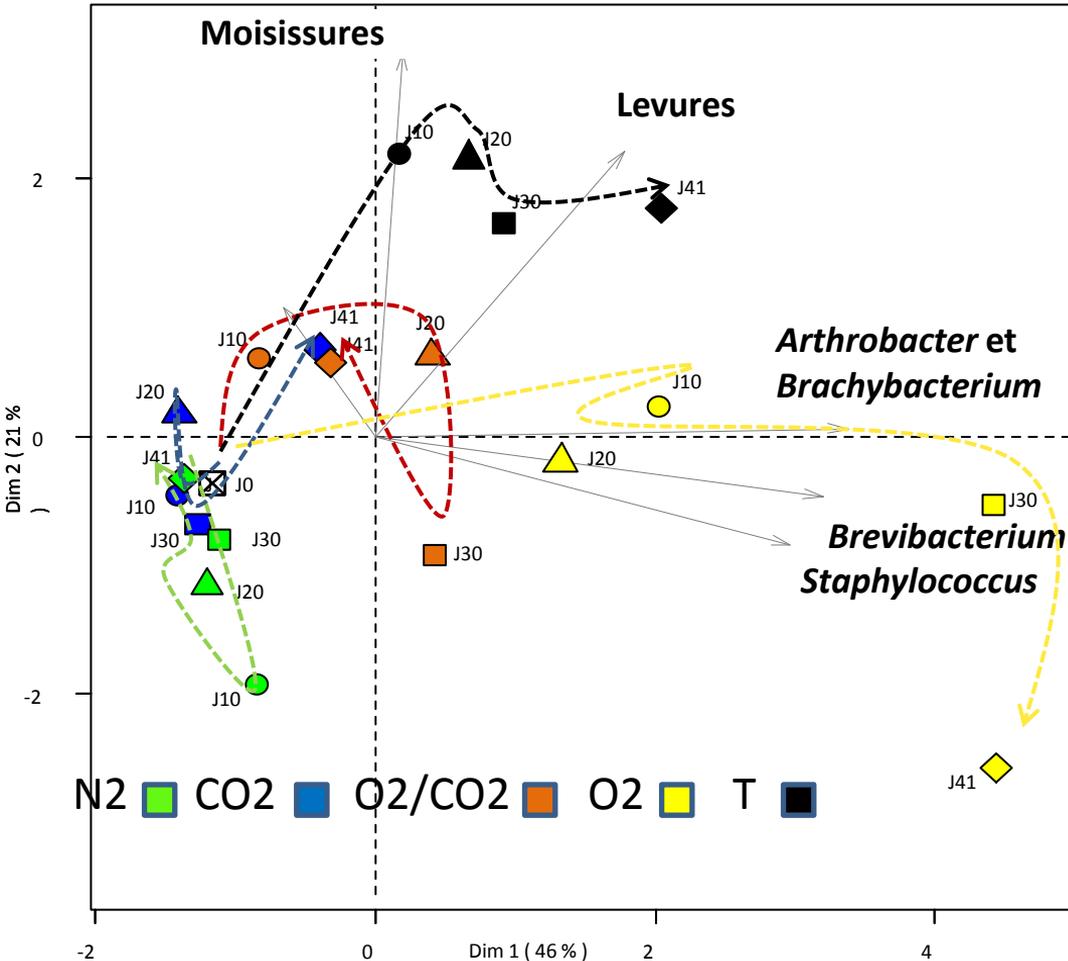
# ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

Levures

à J41

Pas de différence pour les bactéries lactiques et les bactéries à Gram négative





➤ Niveaux microbiens différents selon les conditions

- **En présence d'O<sub>2</sub>** : Evolutions microbiennes importantes = Niveaux plus élevés :

- de bactéries d'affinage (*Staphylococcus*, *Brevibacterium*, *Arthrobacter* et *Brachybacterium*)
- de levures
- En opposition avec les évolutions en absence d'O<sub>2</sub> (CO<sub>2</sub> et N<sub>2</sub>)

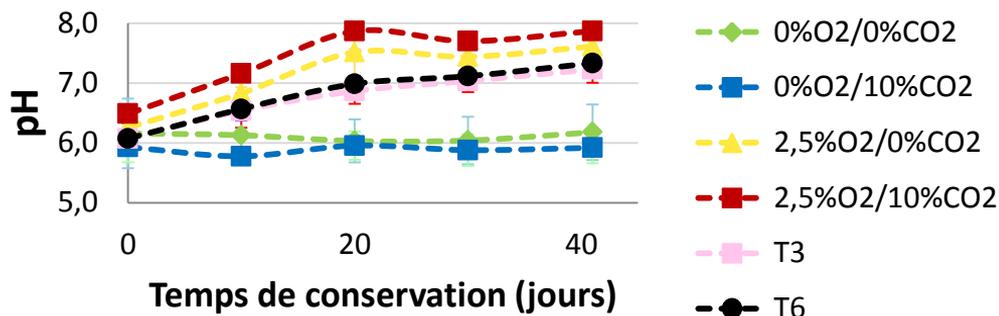
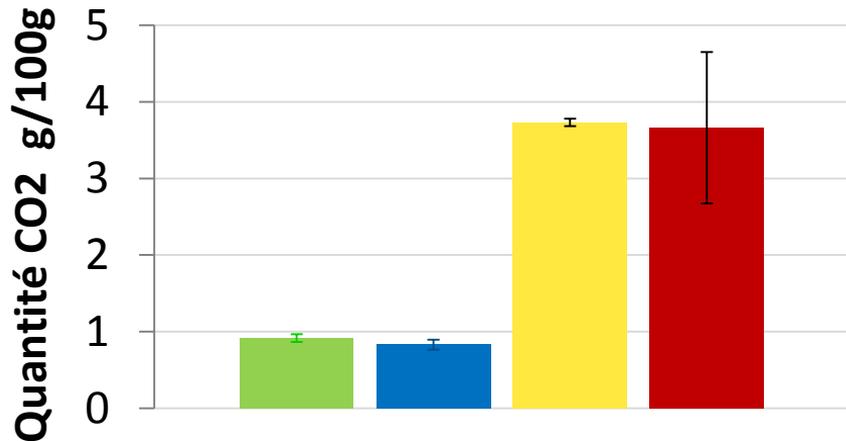
➤ **Condition 2,5%O<sub>2</sub>-10%CO<sub>2</sub>** : niveaux microbiens les plus proches du témoin

# ANALYSES

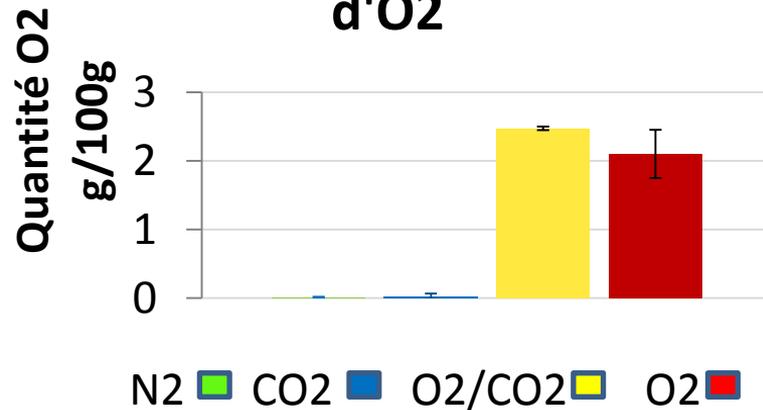
## PHYSICO-CIMIQUES

### Impact sur le pH et l'activité respiratoire

#### Production cumulée de CO<sub>2</sub>



#### Consommation cumulée d'O<sub>2</sub>

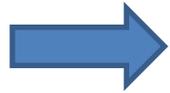


Calcul d'indicateurs physiologiques : vitesses de production CO<sub>2</sub> et de consommation O<sub>2</sub>

Composition de l'atmosphère des emballages → caractéristiques de perméabilité des emballages

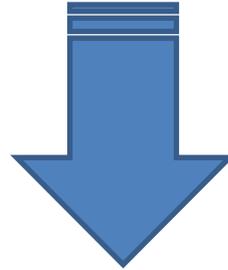


Mise en évidence des effets de l'atmosphère sur l'écosystème microbien et sur les caractéristiques physico-chimiques



2. Identifier les besoins du produit pour une évolution satisfaisante

Suite des travaux



3. Transcrire en indicateurs physiologiques

4. Traduire ces données en propriétés des matériaux (perméabilité)

# Conclusions

Définition d'innovation de procédé: la **mise en œuvre d'une méthode de production ou de distribution nouvelle** ou sensiblement améliorée. Cette notion implique des changements significatifs dans les techniques, le matériel et/ou le logiciel.

## Innovation: oui

- Attractivité
- Faciliter l'usage
- Support d'information
- Augmenter DLC
- Nouveaux marchés

# Conclusions

## Contrainte : oui

- Evolutions différentes du produit / produit traditionnel (microbiologique, physico-chimique, sensorielle), comment « maitriser ces évolutions » ?



- Adaptation de l'écosystème microbien à son nouvel environnement

- Adaptation de l'emballage aux produits et à ces besoins



- Caractériser les évolutions de la matrice en lien avec la composition de l'atmosphère pour définir l'environnement « idéal » → important travail d'investigation (fromages – matériaux)



- Construire un cahier des charges basé sur ces acquis pour définir les caractéristiques souhaitées de l'emballage

- A terme : Quels indicateurs prendre en compte à minima (activités respiratoires, analyse sensorielle, etc..)

# Partenaires du Projet



- Unité Recherche Fromagère, Aurillac
- UMR Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires, Thiverval Grignon (plateformes « ingénierie » et « Analytique »)

