

MAÎTRISE DE LA FERMENTATION BUTYRIQUE PAR UNE MICROFLORE LACTIQUE RÉDUCTRICE

Thèse de Édouard **MUNIER**¹

Analyse de Jean-Christophe **AUGUSTIN**²

Co-directeur de thèse : M. Eric **BEUVIER**, Directeur de recherche, Université de Bourgogne Franche-Comté (Dijon) - INRAE

Co-directeur de thèse : M. Rémy **CACHON**, Professeur des universités, Université de Bourgogne Franche-Comté (Dijon) - L'Institut Agro Dijon

Les clostridies butyriques sont à l'origine du défaut de gonflement tardif des fromages à pâte pressée. La production de gaz (dioxyde de carbone et dihydrogène) par ces bactéries entraîne une dilatation excessive des fromages au cours de leur affinage et la production d'acides butyrique et acétique altère leur profil sensoriel. Ce défaut, à l'origine de graves pertes économiques pour les producteurs, représente un enjeu qualité majeur en fromagerie.

Le principal agent incriminé dans ces accidents est *Clostridium tyrobutyricum* qui est une bactérie tellurique, sporulée, anaérobie stricte. Les spores présentes initialement dans le lait, germent pendant l'étape d'affinage puis la bactérie consomme le lactate par fermentation butyrique. Plusieurs stratégies sont utilisées pour réduire le risque d'apparition du défaut. Elles consistent à réduire la contamination initiale du lait (bonnes pratiques laitières, bactofugation et microfiltration) ou à inhiber la croissance des clostridies (conservateurs, conduite de l'affinage), mais aucune n'est actuellement pleinement satisfaisante pour permettre de maîtriser totalement ce risque.

Le potentiel d'oxydoréduction est également un facteur important modulant la croissance et l'activité bactérienne. Des travaux antérieurs de l'unité de recherche pilotant cette thèse ont montré que l'activité réductrice des flores technologiques influençait la fermentation butyrique. Ce travail de thèse se propose d'approfondir ces premières observations en examinant les points suivants : i) l'impact du potentiel redox sur le comportement de *Clostridium*, ii) l'impact de l'activité réductrice des microflore lactiques sur le comportement et le métabolisme de *Clostridium*.

Des expérimentations en milieu modèle ont permis de confirmer que la diminution du potentiel redox augmente la latence avant germination de *C. tyrobutyricum* sans l'inhiber totalement. En revanche, la gamme relativement restreinte de potentiel redox testée n'a pas montré

¹Thèse de doctorat de l'Établissement Université Bourgogne Franche-Comté, préparée à Inrae/Urtal-Poligny et Institut agro Dijon/Umr Pam-Dijon, École doctorale n°554, « Environnements, santé », Doctorat de spécialité « Biotechnologie en agroalimentaire », Thèse présentée et soutenue à Dijon le 20 janvier 2023.

² Membre de l'Académie d'agriculture de France, section 8 « Alimentation humaine ».

d'impact significatif sur le métabolisme de la fermentation butyrique. Une étude bio-informatique plus fondamentale sur la physiologie et le métabolisme de *C. tyrobutyricum* a également été réalisée. Le séquençage du génome de la souche de *C. tyrobutyricum* utilisée dans cette thèse a permis de comparer les séquences protéiques et nucléotidiques avec d'autres espèces de *Clostridium* et de *Bacillus* afin d'identifier les mécanismes de sporulation et de germination chez *C. tyrobutyricum*. Son mécanisme de sporulation se rapprocherait de celui connu chez plusieurs espèces de clostridies alors que celui de sa germination serait plus proche de celui décrit chez *B. subtilis*. De plus, la voie métabolique d'utilisation du lactate a pu être élucidée en combinant des analyses transcriptomiques *in silico* et des études en continu des flux métaboliques. En outre, ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives pour la production industrielle d'acide butyrique et d'hydrogène par fermentation butyrique.

La fabrication, à l'échelle pilote, de fromagesensemencés avec des souches de bactéries lactiques à activité réductrice a permis d'évaluer leur impact sur l'apparition du défaut de gonflement par *C. tyrobutyricum* pendant l'étape d'affinage. Les souches de bactéries lactiques ont été sélectionnées sur la base de leurs propriétés réductrices, amplitude et vitesse, à l'aide d'une méthode originale. Ces essais ont globalement montré que l'activité réductrice des bactéries lactiques n'influçait pas l'apparition du défaut. Seule une association *Lactococcus lactis* / *Lactobacillus rhamnosus* semblait montrer un ralentissement de l'activité métabolique de *Clostridium* qui pourrait confirmer le retardement de l'initiation de la germination observée en milieu laboratoire.

Les travaux de thèse de M. Edouard MUNIER apportent des avancées significatives dans la compréhension de la physiologie et du métabolisme de *Clostridium tyrobutyricum*. Ces résultats contribuent à enrichir les connaissances relatives à l'utilisation potentielle de microflores lactiques réductrices comme solution au défaut de gonflement tardif des fromages à pâte pressée.

C'est à ce titre que cette analyse mérite de figurer sur le site de l'Académie et dans le Mensuel pour valorisation de ces travaux.