

Préparation d'une culture d'exploitation



Info sur l'expédition des cultures

- Les cultures liquides de la Liebefeld Kulturen SA sont produites chaque semaine.
- Après le contrôle qualité, les cultures sont libérées puis expédiées le mercredi ou le jeudi.
- La chaîne du froid est interrompue lors de l'envoi postal, ce qui provoque un léger « stress » pour les microorganismes. L'expérience ainsi que des examens approfondis ont montré que, lors d'un envoi sans complication, l'activité normale de la culture est garantie jusqu'à la date limite.

Comment procéder ?

→ **Après réception de la culture**, stockez-la directement à <5°C.

→ **Si elle n'est pas arrivée le jour habituel**, annoncez-le au service de commande des cultures. Au besoin, un flacon de remplacement vous sera immédiatement envoyée.

Règles de base

*Hygiène,
Prévention des
bactériophages*

- La règle de base: propreté sans compromis lors du maniement des cultures (matériel, personnel, environnement).
- Ensemencement et incubation hors de la zone de fabrication et dans un lieu propre, sec et bien aéré.
- Ensemencement idéalement avant ou après la fabrication de fromage.
- Désinfection des mains et du lieu de travail à l'aide d'alcool ou d'isopropanol approprié.
- Laisser une flamme allumée à côté du récipient ouvert (flux d'air ↑).

1. Milieux recommandés

- **Lait maigre frais*** (lait frais = moins de germes = meilleure efficacité du traitement thermique)
- **Lait maigre en poudre*** (9 l d'eau pour 1 kg de lait maigre en poudre instantané)
- **Lait maigre UHT en brique**
 L'expérience a montré que l'acidification peut varier selon le fournisseur de lait. Inconvénient : l'emballage ne permet pas de contrôle visuel pendant l'incubation.

Le lait drink ou le lait entier sont moins recommandés car l'homogénéisation de la graisse peut provoquer des fromages rances.

**nécessite un traitement thermique*

2. Récipient pour la fabrication de la culture d'exploitation

- Dans les fromageries artisanales, l'utilisation de bouteilles en verre ou de briques UHT est appropriée. Certains praticiens utilisent des récipients en inox.
- Avec l'augmentation de la taille des exploitations, l'utilisation de petites bouteilles devient peu pratique. L'alternative est l'utilisation de grandes bouteilles de laboratoire (type « Schott ») ou de fermenteurs.



fig.: bouteille « Schott » (jusqu'à 10 l)



fig.: brique UHT

- Information pour les grands récipients: le rapport surface d'échange de chaleur/volume est plus petit. Le milieu se trouve donc plus longtemps à une température supérieure à 80 °C, ce qui a pour conséquence d'augmenter la charge thermique et les effets sur les composés chimiques du lait (brunissement plus intense). Ceci n'accroît pas l'effet de stérilisation car la destruction des spores a lieu principalement depuis le point d'ébullition.

Pour ces raisons, il faut:

- Tester les conditions de chauffage
- Choisir un milieu (lait, poudre) pauvre en germes
- Utiliser rapidement le milieu « stérile ». Un long stockage entre 10 et 60 °C peut permettre la germination des spores survivantes. Certaines sporulées sont psychrotrophes.

Astuces: lavages des bouteilles en verre

- *Rincer directement après utilisation → plonger dans une solution alcaline ou neutre → laver avec une brosse (éviter de griffer) → rincer → plonger dans une solution acide (autre que celle du matériel de la fromagerie) → bien rincer.*
- *Remplacer les couvercles corrodés ou abîmés, changer périodiquement les bouteilles.*
- *Ne pas utiliser des produits de nettoyage avec des agents mouillants ou des ammonium quaternaires (QAV).*

3. Traitement thermique/ stérilisation du milieu

- « Stérilisation » en **autoclave** ou dans une **marmite à pression** (autocuiseur).
- Traitement thermique dans une **marmite**. Dans plusieurs fromageries, la « stérilisation » proprement dite a été abandonnée. Le lait est chauffé sans pression à 95-98 °C pendant 90-120 minutes (ex. marmite „Bertschinger“, voir la photo). Une étude d'Agroscope a montré que cette pratique permet d'obtenir une culture sûre, malgré que le lait ne soit pas complètement stérile. À condition que:
 - Le lait maigre (ou la poudre de lait) utilisé soit pauvre en spores.
 - Le milieu soit, après le traitement thermique, bien refroidi ou utilisé tout de suite (risque de germination des spores psychrotrophes).
 - Le lait soit incubé au bain-marie uniquement (des contaminants survivants pourraient se multiplier pendant un préchauffement prolongé dans l'incubateur avant l'inoculation)



fig.: marmite „Bertschinger“

- Respecter les consignes de sécurité aussi bien pour la marmite à vapeur que pour l'autoclave: contrôler le niveau de l'eau et le fonctionnement de la soupape de sécurité et laisser refroidir suffisamment la marmite avant de l'ouvrir.
- Idéalement, le lait ayant subi un traitement thermique doit être conservé au frais s'il n'est pas utilisé tout de suite. Mais attention, la condensation formée à l'extérieur de la bouteille lors de son passage du réfrigérateur à température ambiante augmente les risques de contamination lors de la manipulation.

Astuces

Un bon **indicateur** d'une « **stérilisation** » **correcte** du lait est son degré de brunissement (réaction de Maillard): il devrait être légèrement brunâtre.

Test de « stérilité » du lait: il doit rester liquide après une incubation de 72 h à 38 °C.

4. Ensemencement et incubation

Dans la pratique, il existe 3 manières de procéder:

Méthode 1 (avec un incubateur, recommandé uniquement pour le lait UHT ou stérile !)

- En cas d'utilisation d'un incubateur, **préchauffer** le lait minimum 12 h avant l'ensemencement.
- Secouer le flacon de culture avant l'emploi puis **ensemencer** la quantité recommandée dans la spécification.
- **Incuber** le lait selon les paramètres définis par l'exploitation.
- **Utiliser** les cultures ou les **stocker** au froid.

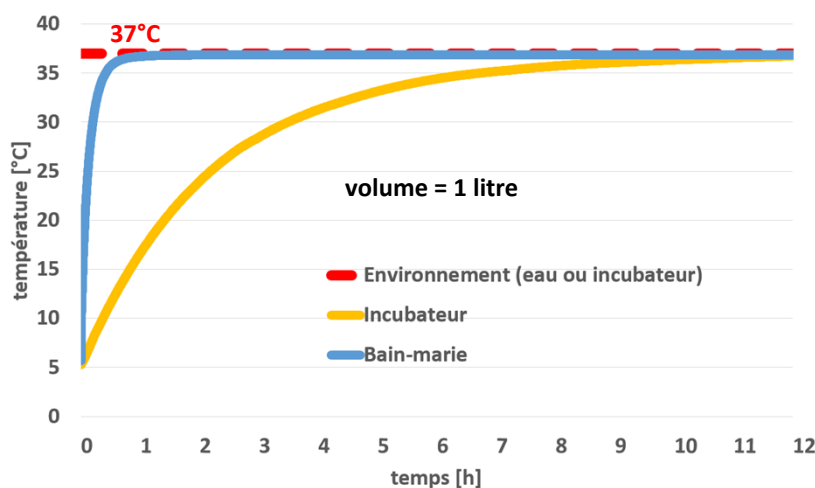


Fig.: différences de l'évolution de la température dans 1 litre de lait dans un bain-marie et dans un incubateur réglé à 37°C (température mesurée au cœur du récipient). Attention ! La température peut varier selon les conditions des appareils !

Méthode 2 (dans un bain marie)

Grâce à la rapide transmission de chaleur, l'utilisation d'un bain marie permet d'incuber le laitensemencé sans préchauffage. Cependant, la transmission de chaleur peut varier selon le volume de cultures, le volume d'eau, la puissance de chauffage, etc.

- Secouer le flacon de culture avant l'emploi puis **ensemencer** la quantité recommandée dans la spécification dans le lait froid.
- **Incuber** le lait dans un bain-marie selon les paramètres définis par l'exploitation.
- **Utiliser** les cultures ou les **stocker** au froid.

Méthode 3 (ensemencement en une fois)

Il est alors possible d'ensemencer le lait pour la production de plusieurs jours voire une semaine.

- Secouer le flacon de culture avant l'emploi puis **ensemencer** la quantité recommandée dans la spécification dans le lait froid.
- **Conserver** le laitensemencé à <5°C.
- **Incuber** le lait dans un bain-marie selon les paramètres définis par l'exploitation.
- **Utiliser** les cultures ou les **stocker** au froid.

Avantages

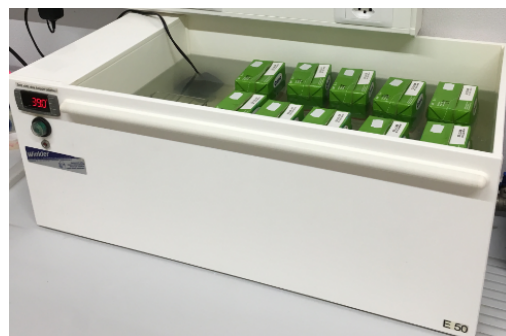
- Le flacon contenant les souches de culture n'est ouvert qu'une seule fois.
- L'activité des bactéries lactiques est mieux préservée à un pH neutre qu'à un pH bas.

Points critiques

- L'ensemencement doit être effectué avec le plus grand soin (risque d'infection par des germes psychrotrophes).
- Exigences strictes de la stérilité du milieu (psychrotrophes formant des spores).

Indications pour les briques UHT

- L'utilisation de briques de lait maigre UHT avec un bouchon vissé est simple et pratique. L'ensemencement doit être effectué rapidement et en respectant les règles de base (voir-ci-dessus) afin d'éviter toutes contaminations. Cependant, il est aussi possible d'injecter la culture mère à l'aide d'une seringue à usage unique. L'endroit de piqûre doit être préalablement désinfecté puis refermé avec du papier collant ou de la cire.
- Il est conseillé d'utiliser un incubateur pour l'incubation des briques UHT et de les préchauffer pendant 12 h. En effet, certaines briques se désagrègent lorsqu'elles sont immergées plusieurs heures dans l'eau. De plus, une incubation au bain marie augmente les risques de contamination. Lors de cette pratique, il est conseillé de placer les briques dans un statif stable afin d'éviter qu'elles versent et de remplir le bassin de manière que l'endroit de piqûre ne soit pas immergé dans l'eau.



5. Paramètres d'incubation

- a) Cultures thermophiles (CMB, CM)**
 - Incubation à 38 +/- 0.5 °C (voir spécification) dans un bain-marie ou un incubateur
 - Culture „jeune“ : incubation pendant 6 -10 h → acidité entre 30 - 40 °SH
 - Culture „acide“ : incubation pendant 12-18 h → acidité entre 48 - 55 °SH
- b) Cultures mésophiles**
 - Incubation à 20-32 +/- 0.5 °C (voir spécification) dans un bain-marie ou un incubateur. *Certains praticiens incubent les cultures mésophiles à température ambiante.*
 - Une température d'incubation plutôt basse (20-25°C) favorise la formation d'arôme et de gaz.
- c) Mélange de cultures thermo-/mésophile**
 - Incubation aussi bien en mésophile (32 °C) qu'en thermophile (38 °C) selon la partie de la culture d'exploitation qui doit être dominante.
- d) Cultures de lactobacilles hétérofermentaires facultatifs (LHF)**
 - Durée d'incubation relativement long, car elles se développent lentement comparativement aux autres cultures.
 - Culture pure LHF : incubation à 32 °C ou 38 °C pendant 20-24 h → acidité 17-22 °SH. Une valeur plus élevée signifie que la culture est contaminée par des germes étrangers.
 - Sont souvent cultivées en combinaison avec une culture acidifiante type „CMB vieille ou acide“ (38°C/14-18 h).

Astuces

- Il est primordial que, durant toute la durée d'incubation, la température désirée soit maintenue. Selon l'emplacement et l'utilisation du bain-marie ou de l'incubateur, la température peut varier considérablement dans une même charge.
- Lors de l'incubation, il faut laisser suffisamment d'espace entre chaque bouteille ou chaque brique afin que l'eau ou l'air chaud puissent circuler.
- Une pipette remplie normalement contient ~0.7 ml



6. Conservation de la culture d'exploitation

- Après l'incubation, utiliser directement la culture ou la conserver au froid <5 °C. Les bouteilles en verre ou les récipients en inox peuvent être préalablement refroidis dans de l'eau froide.
- Dans les deux cas, il est important de laisser suffisamment d'espace entre les briques et les bouteilles afin que le froid circule correctement.
- Conserver la culture au réfrigérateur à max. 5 °C et l'utiliser dans les 5 jours.

7. Contrôle de la culture d'exploitation

- La culture d'exploitation doit être contrôlée régulièrement. Si la culture ne correspond pas aux valeurs habituelles fixées par la fromagerie, elle ne doit pas être utilisée.
- Les contrôles standards sont les suivants :
 - Titration de l'acidité ou mesure du pH
 - Contrôle organoleptique (aspect, odeur, ...)
 - Image microscopique
 - Pureté

Autres contrôles

- Température du réfrigérateur, de la stérilisation et de l'incubation.
- Mesure de l'acidité du petit-lait durant l'égouttage ou du pH du fromage après 2 h, 4 h, 8 h ou 24 h.
- Teneur en acide lactique dans le fromage d'un jour.
- Culture LHF: teneur en citrate dans le fromage.

Diagramme de flux pour la préparation des cultures

Préparation du lait
 voir chapitre 1 - 3

Incubation et ensemencement
 voir chapitre 4 et 5

Conservation et contrôle
 voir chapitre 6 et 7

