Observations suivies sur la protéolyse pendant la maturation du fromage « Télémé »*

par

C. MANOLKIDIS, A. POLYCHRONIADOU
et E. ALICHANIDIS

*Laboratoire de Technologie Laitière,
Université de Thessaloniki (Grèce)*

INTRODUCTION

La plus importante transformation pendant la maturation des fromages c'est incontestablement la dégradation des protéines. Selon la presque totalité des auteurs elle procède en trois stades :

1) Dégradation hydrolytique des protéines en composés plus simples, mais de poids moléculaire encore considérable, les albumoses et les peptones.

2) Dégradation hydrolytique des albumoses et des peptones en peptides et amino-acides.

3) Dégradation des amino-acides en hydroxy- et céto-acides avec dégagement simultané d'ammoniaque.

Inichow [1] a, en outre, observé qu'il est possible qu'une désamination des protéines et des peptones ait directement lieu, en sorte qu'il apparaisse de l'ammoniaque dès le début de la maturation. Il a en même temps observé que, tandis que la dégradation vers des combinaisons conservant le caractère de protéine marche vite, la dégradation ultérieure est considérablement plus lente.

Pour l'observation suivie de la marche de la protéolyse on a par intervalles de temps appliqué diverses méthodes, telle la méthode électrophorétique de Storgards et Lindquist [15] qui, convenablement modifiée, peut constituer une méthode très précise d'observation de la maturation des fromages ; comme aussi la méthode très simple proposée par Schober et al. [11], d'observation de la maturation à l'aide d'ionophorèse de haute tension et de chromatographie sur papier, appliquée pour la première fois sur le fromage Limburg. Enfin par Vakaléris et Price [16] fut proposée pour la détermination

* Le présent travail fut fait aux frais du Ministère de l'Agriculture de la Grèce.

de la maturation des fromages, une rapide méthode spectrophotométrique.

L'objet du présent travail, est l'étude de la dégradation des protéines du fromage « Télémé », l'un des fromages les plus largement consommés en Grèce.

MATERIEL ET METHODES

Pour les expérimentations il a été utilisé du fromage « Télémé » provenant d'une fromagerie de la région de Thessaloniki.

Pendant trois années consécutives il a été pris sept échantillons de fabrication de fromage, dont trois de production de printemps-été (avril-juin) et quatre de production d'hiver-printemps (janvier-mars). De chaque échantillon de cette fabrication étaient pris, pour analyse, 14-16 échantillons d'abord par petits intervalles de temps, ensuite par intervalles de plus en plus grands.

La composition de ces échantillons et du lait duquel ils provenaient est donnée dans une précédente étude [5].

De chaque échantillon une partie était séchée sous vide (10 Torr, 20° C), triturée, dégraissée et conservée à la température de -10° C. La poudre ainsi obtenue était maintenue, comme il le fut expérimentalement démontré, inaltérable au-delà d'une année et était utilisée pour les déterminations ci-dessous.

a) *De l'azote protéique* : Nous avons appliqué la méthode de précipitation des protéines par une solution aqueuse à 10 p. 100 d'acide trichloracétique, comme il est décrit par Schormüller et al. [12]. Par cette méthode était aussi possible l'utilisation du filtrat pour la détermination des amino-acides, étant donné que par l'ébullition est facile la dissociation quantitative de l'acide trichloracétique en bioxyde de carbone et chloroforme.

La détermination de l'azote non protéique dans le filtrat était faite d'après Kjeldahl et la quantité trouvée soustraite de l'azote total donnait l'azote protéique.

b) *De l'azote soluble* : 2 g de fromage étaient traités avec 40 ml d'eau à 45° C pendant 15 mn, ils étaient laissés au repos pendant 30 mn et centrifugés pendant 15 mn à 6 000 t/mn. Ce travail était répété deux fois d'abord avec 40 ml d'eau et ensuite avec 20 ml. Le volume était complété à 100 ml, dont les 25 ml étaient brûlés d'après Kjeldahl pour la détermination de l'azote soluble.

c) *De l'azote soluble non protéique* : A 25 ml de la solution ci-dessus, étaient ajoutés 2,5 g d'acide trichloracétique solide ; ils étaient agités pendant 15 mn, laissés au repos pendant 15 mn et centrifugés pendant 15 mn à 6 000 t/mn. Le liquide clair obtenu était brûlé d'après Kjeldahl et donnait l'azote soluble non protéique. Par

soustraction de celui-ci de l'azote soluble, était obtenu l'azote protéique soluble.

d) *De l'azote des amino-acides et des peptides* : Pour sa détermination nous avons utilisé le filtrat pris lors de la détermination de l'azote protéique que nous faisons bouillir jusqu'à la dissociation complète de l'acide trichloracétique. Nous avons appliqué la méthode de Willstätter et Waldschmidt-Leitz [17].

e) *De l'azote ammoniacal* : Sa détermination en a été faite par distillation à la température de 40° C et sous pression de 60 mm Hg [12].

Toutes les fractions d'azote sont calculées comme pourcentages de l'azote total afin d'être plus facilement comparables.

RESULTATS ET DISCUSSION

La quantité de l'azote protéique commence à décroître dès les premiers jours et la décroissance continue régulièrement pendant toute la durée de la maturation (fig. 1). Cette décroissance est certes due à la dégradation continue des protéines vers des composés de poids moléculaire moindre ne pouvant pas être précipités par l'acide trichloracétique. Comme Payens [7] lui-même l'a constaté, la pro-

fig. 1

téolyse commence à partir de la fabrication du fromage ; néanmoins nous avons observé que, même après une maturation de 8 mois, la plus grande partie des protéines (caséine) reste inaltérable. Cela est aussi confirmé par les résultats d'autres auteurs [2, 3, 7] qui se sont occupés de la maturation de divers types de fromages.

Aucune différence essentielle n'a été observée dans le comportement des fromages de fabrication hivernale ou printanière.

L'hydrolyse des protéines a pour conséquence la teneur considérable dès les premiers jours du fromage en azote soluble dont une grande proportion n'est pas de nature protéique, ne précipitant pas par l'acide trichloracétique. Une teneur si haute en azote soluble, dès les premiers jours, fut observée par Lenoir [3] dans le fromage Camembert, par Poznanski [8] dans le fromage Edam et par Stephanova-Kondratenko [14] au fromage Cachcaval ; elle est attribuée à l'action protéolytique des enzymes de la présure, étant donné qu'il est impossible que les micro-organismes aient déjà agi.

La teneur du fromage en azote soluble diminue brusquement pendant les premiers jours car le petit-lait émis entraîne une quantité considérable d'azote soluble. Dès le jour de la fermeture des pots d'emballage (7^{me} au 10^{me} jour) et de leur introduction dans le réfrigérateur (7° C), la teneur en azote soluble commence déjà à s'accroître ; elle revient aux niveaux initiaux après deux mois environ quand le fromage est assez acceptable. La croissance se poursuit à une allure lente régulièrement pendant toute la durée de l'observation de la maturation (fig. 2).

fig. 2

La partie non protéique de l'azote soluble augmente pendant toute la durée de la maturation régulièrement et sans fluctuations ; après 6 mois il constitue le 70 p. 100 de l'azote soluble, ce que prouve aussi l'accroissement de la teneur du fromage en amino-acides et peptides. Au contraire, sa partie protéique reste presque constante pendant toute la durée de la maturation (fig. 2).

La teneur du fromage en amino-acides, peptides et ammoniacque augmente en général pendant la marche de la maturation. Contrairement aux résultats de Ritter et al. [10], qui ont constaté un accroissement intense des amino-acides dès le premier mois et son ralentissement plus tard dans les fromages Gruyère et Emmental, la teneur du fromage « Téléme » en amino-acides décroît brusquement pendant les premiers jours pour la raison que le petit-lait sortant entraîne avec lui une quantité considérable d'acides-amino. Vers le 25^{me} jour, leur quantité atteint les niveaux initiaux ; elle demeure presque constante jusqu'au 120^{me} jour, à partir duquel elle commence à augmenter, comme il est indiqué dans la figure 3.

fig. 3

La teneur en peptides décroît pendant les premiers jours, pour la raison citée déjà plus haut, et ensuite elle revient aux niveaux initiaux vers le 45^{me} jour à partir de la coagulation. Depuis lors elle augmente continuellement jusqu'à la fin de nos observations sur la maturation (environ 8 mois ; fig. 4).

fig. 4

La quantité de l'ammoniaque commence à croître à partir du 20^{me} jour et continue jusqu'à la fin des observations (fig. 5).

fig. 5

Comme il ressort des figures 3 et 4, pendant la marche de la maturation l'accroissement du taux des peptides est nettement plus intense que celui des amino-acides. Ce fait atteste que la protéolyse marche en étendue et non en profondeur. Par conséquent, conformément au point de vue de Masayoshi [6], Poznanski et Rymaszewski [9] et Poznanski [8], la protéolyse est surtout due à l'action des enzymes de la présure et non à celle des streptocoques lactiques. Ceci est d'ailleurs confirmé par le fait que pendant la première semaine, c'est-à-dire avant l'introduction des fromages dans le réfrigérateur, le taux des peptides a diminué, tandis que le taux des amino-acides était élevé. Au contraire, pendant le séjour des fromages dans le réfrigérateur, où l'action des micro-organismes était lente en raison de la basse température, la production des peptides était plus intense que celle des amino-acides.

Cependant, malgré le rôle considérable de la présure, Lindquist et Storgards [4] ont observé une haute spécification de certaines bactéries, isolées à partir de fromages, à la dégradation de la caséine. La prédominance de l'une ou de l'autre espèce de micro-organismes lors de la fabrication et maturation du fromage peut conduire en une composition différente de ses fractions azotées.

De l'observation suivie de la protéolyse nous avons constaté que la teneur en peptides ne devient jamais considérable. Ceci vient en contradiction avec les faits qu'a trouvés Stephanowa-Kondratenko [14] au fromage Cachaval, où les peptides se trouvent toujours en quantité plus grande que les amino-acides et l'ammoniaque. Cette basse teneur en peptides, en combinaison aussi avec la haute acidité du fromage, justifie la non apparition d'une saveur amère à aucun cas

et à aucun stade de la maturation, si toutefois nous admettons le point de vue de Stadthouders [13] que la saveur amère serait due à une disproportion entre la production par la présure de peptides à partir des protéines du fromage et leur dégradation ultérieure par les enzymes protéolytiques des streptocoques lactiques.

Comme coefficient de maturation nous avons admis le rapport de l'azote soluble à l'azote total du fromage. Sa marche, malgré les nombreuses déviations, se caractérise par une manifeste élévation pendant la progression de la maturation, laquelle après les trois premiers mois est très lente (fig. 6). Le développement de la saveur agréable du fromage coïncide généralement avec le ralentissement de l'élévation du coefficient de maturation ou il le suit de peu. Le fromage peut par conséquent être livré à la consommation en général après environ un trimestre depuis sa fabrication.

fig. 6

Résumé

Dans le présent travail nous avons étudié la dégradation des protéines du fromage « Télémé » pendant une durée de maturation de huit mois.

Les protéines s'hydrolysaient régulièrement pendant toute la durée de la maturation, tandis que respectivement l'azote soluble augmentait. De l'azote soluble la partie protéique restait presque constante de sorte que l'augmentation était due à sa partie non protéique (amino-acides, peptides, ammoniacque, etc.). La production de peptides allait plus vite que celle des amino-acides, sans que leur quantité eut jamais dépassé celle des amino-acides.

Le fromage n'a obtenu les propriétés organoleptiques souhaitables que presque un trimestre à partir de sa coagulation, quand le coefficient de maturation (Az soluble / Az total) a pris à peu près sa valeur maximum.

Summary

Study of proteolysis during ripening of « Teleme » Cheese

This is a study of the protein degradation in « Teleme » white cheese during an eight-month ripening period.

It was found that proteins were hydrolysed regularly throughout the ripening period while the amount of soluble nitrogen increased proportionately. The protein part of the soluble nitrogen remained almost constant so that the increase observed was clearly due to the non-protein part (amino-acids, peptids, ammonia, etc.). The production of the peptids proceeded faster than that of the amino-acids but in the end-product the quantity of the former was never greater than that of the latter.

The cheese obtained the necessary organoleptic properties three months after coagulation, when the ripening coefficient (N soluble / N total) was at almost its highest value.

Références

- [1] INICHOW (G. S.) (1959). — Biochemie der Milch und der Milchprodukte. *Vlg. Technik*, Berlin.
- [2] KLIMOVSKY (I. I.) (1959). — Some features of the decomposition of protein substances during the ripening of Edam cheese. *XV^e Int. Dairy Congress*, 2 sec. 3, 697.
- [3] LENOIR (J.) (1963). — Note sur la dégradation des protides au cours de la maturation du Camembert. *Le Lait*, 43, 154.
- [4] LINDQUIST (B.), STORGARDS (T.) (1962). — Degradation of a- and b-caseine by rennin. *XVI^e Int. Dairy Congress*, 2, 665.
- [5] MANOLKIDIS (C.), POLYCHRONIADOU (A.), ALICHANIDIS (E.) (1970). — Variations dans la composition du fromage « Télémé » au cours de sa maturation. *Le Lait*, 50, 38.
- [6] MASAYOSHI (O.) (1956). — Studies on the rennet. V. On the proteolysis of casein by crystalline rennin. *XIV^e Int. Dairy Congress*, 2, 379.
- [7] PAYENS (T. A. J.) (1958). — Elektroforetisch onderzoek van de eiwitafbraak tijdens de kaasripping. *Nederl. Melk Zuiveltidschr.*, 12, 99.
- [8] POZNANSKI (S.) (1964). — Abbau der in Wasser und Alkohol unlöslichen Stickstoff-Verbindungen bei der Reifung von Edamer Käsen. *Milchwiss.*, 19, 425.
- [9] POZNANSKI (S.), RYMASZEWSKI (J.) (1965). — Proteolysis during the ripening of Edam Cheese with the participation of some bacteria strains. Part I. Changes in particular nitrogen fractions. *Milchwiss.*, 20, 14.

- [10] RITTER (W.), SCHILT (P.), LOWE (A.) (1966). — Recherches sur le développement des peptides et des acides aminés dans le fromage. *XVII^e Cong. Int. Laiterie*, D, 269.
- [11] SCHÖBER (R.), CHRIST (W.), ENKELMANN (D.) (1959). — Zum Chemismus der Reifung von Limburger Käse. *Milchwiss.*, 14, 206.
- [12] SCHÖRMÜLLER (J.), LIESE (H.), WINTER (H.) (1954). — Beiträge zur Biochemie der Käsereifung II. *Zeitsch. f. Lebensmittel-Untersuchung-Forschung*, 98, 258.
- [13] STADHOUDERS (J.) (1962). — The proteolytic activity of rennet and starter bacteria in cheese with reference to bitter flavour. *XVI^e Int. Dairy Congr.*, 2, 353.
- [14] STEPHANOWA-KONDRATENKO (M.) (1964). — Die quantitative Veränderung des gesamten und des löslichen Stickstoffs, des Pepton- und des Aminostickstoffs im Kaschkaval während seiner Reifung und Lagerung. *Milchwiss.*, 19, 493.
- [15] STORGARDS (T.), LINDQUIST (B.) (1953). — Ein Vergleich des Reifungsprozesses verschiedener Käsesorten, auf Grund einiger neuer Untersuchungsmethoden. *XIII^e Int. Dairy Congr.*, 11, 625.
- [16] VAKALERIS (D.G.), PRICE (W.V.) (1959). — A rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. *J. Dairy Sci.*, 42, 264.
- [17] WILLSTATTER (R.), WALDSCHMIDT-LEITZ (E.) (1921). — Alkalimetrische Bestimmung von Aminosäuren und Peptiden. *Ber. Dtsch. Ges.*, 54, 2 988.

Reçu pour publication en novembre 1969.