Étude de la variété de fromage « Ulloa »

II. PREPARATION D'UN LEVAIN POUR SA FABRICATION A PARTIR DE LAIT PASTEURISE

par

J. BURGOS et J. A. ORDÓÑEZ

*Chaire de biochimie et de technologie des aliments
Faculté Vétérinaire de León (Espagne)*

INTRODUCTION

Bien que les caractéristiques spécifiques de chaque variété de fromage dépendent de nombreux facteurs, il semble certain que la flore microbienne joue un rôle fondamental dans la détermination de ces propriétés.

La flore des fromages fabriqués de façon artisanale, à partir de lait cru est essentiellement constituée des germes naturellement présents dans le lait, et de ceux qui sont introduits accidentellement tout au long du processus d'élaboration. Parmi ceux-ci, on trouve des germes pathogènes et d'autres qui sont nocifs pour la qualité du fromage. Pour éliminer le risque potentiel que peut présenter la survie de germes pathogènes et de micro-organismes capables de produire des effets nuisibles pour la qualité finale du produit, il est nécessaire d'avoir recours à la pasteurisation pour l'élaboration industrielle du fromage. Ce traitement détruit également la majeure partie des micro-organismes dont l'action permet la coagulation du lait dans les conditions désirées et la production, dans le caillé, de transformations favorables au cours de la maturation.

Il y a lieu, par conséquent, d'ensemencer le lait avec un levain adéquat. Malheureusement, les mêmes levains sont fréquemment utilisés pour la fabrication de nombreuses variétés de fromages. Il n'est cependant pas possible de produire chaque variété avec ses caractéristiques complètes à l'aide des seules techniques d'élaboration, insuffisantes pour cet usage.

Pour l'élaboration industrielle d'un fromage présentant des caractéristiques aussi voisines que possible d'une variété artisanale déterminée, fabriquée avec du lait cru, il est indispensable de connaître

au préalable le rôle joué par sa flore afin de permettre la préparation d'un levain adéquat.

Parmi les fromages à pâte semi-molle fabriqués traditionnellement en Espagne, le type « Ulloa » joue un rôle particulièrement important par le volume de sa production [10]. Les caractéristiques technologiques de son élaboration, la constitution de sa flore dominante et l'évolution de celle-ci tout au long du processus de maturation, ont été déjà décrites antérieurement [10]. Le présent travail résume les expériences réalisées afin de préparer un levain adéquat pour l'élaboration de ce type de fromage avec du lait pasteurisé.

MATERIELS ET METHODES

Micro-organismes utilisés

Ont été employées les souches de *Streptococcus lactis*, *S. cremoris*, *Lactobacillus plantarum*, *S. faecium* et *S. faecalis*, var. *liquefaciens*, ainsi que deux souches de microcoques (les souches 2 et 4 qui ont fait fermenter le lactose), isolées à partir du lait et des fromages fabriqués de façon artisanale (voir le travail précédent [10]).

Préparation des levains

Les souches isolées ont étéensemencées dans du lait écrémé stérilisé, et conservées par lyophilisation. Les levains correspondants ont été préparés à partir des lyophilisats, consécutivement à la régénération des micro-organismes par trois réensemencements successifs dans du lait écrémé stérile. Les souches utilisées pour la préparation de chaque levain ont été inoculées dans le même milieu au taux de 1 p. 100 et cultivées pendant 16 h. Dans le cas où *L. plantarum* a été utilisé, son incorporation au milieu de culture a été effectuée 6 h après celle des autres espèces.

Fabrication des fromages

Dans une première étape, l'élaboration a été effectuée au laboratoire ; les résultats obtenus ont été confirmés ensuite par la fabrication de fromages à échelle semi-industrielle. Du lait de vache, normalisé à 3,5 p. 100 de matière grasse et d'un pH initial 6,7, a été utilisé dans les deux cas.

Dans le cas des expériences réalisées au laboratoire, le lait a été pasteurisé à 65° C durant 15 mn ; dans celles conduites à échelle semi-industrielle, la pasteurisation a été effectuée au moyen d'échangeurs de température à plaques, à 74° C. La technique de fabrication a été conforme, en règle générale, à celle décrite précédemment [10]. Le découpage de caillé a été réalisé au laboratoire à l'aide d'un cou-

teau, et, pour les expériences à échelle semi-industrielle, au moyen d'une tranche-caillé. La maturation a eu lieu à 11° C-13° C pendant 25 j, la valeur de l'humidité relative ambiante étant de 85 p. 100. Dans le cas des expériences effectuées au laboratoire, la valeur correspondante a été estimée à environ 60 p. 100 (elle ne fut pas contrôlée).

Analyses microbiologiques et biochimiques

Le comptage total de germes et le fractionnement des composants azotés ont été réalisés conformément à la méthode décrite dans notre travail antérieur [10].

Analyse de la qualité organoleptique

Cette analyse a été effectuée selon un barème établi par dix dégustateurs expérimentés ; ce barème a été déterminé en fonction des contributions apportées à la qualité finale par chacune des caractéristiques organoleptiques les plus importantes (saveur, odeur, consistance et couleur) de ce type de fromage. Les coefficients suivants ont été calculés : saveur 0,5 - odeur 0,18 - consistance 0,2 et couleur 0,12.

Une note, sur 10, a été attribuée par chaque membre du jury à chaque lot de fromages et pour chacune des caractéristiques citées. La qualité organoleptique globale a été obtenue par la somme des différentes notes obtenues, pondérée selon les coefficients indiqués ci-dessus.

RESULTATS

Pour les essais effectués au laboratoire, six levains différents ont été préparés. Une série de fromages a été fabriquée avec chaque levain. La charge microbienne apportée par la culture a été, dans tous les cas, d'environ 10⁸ germes/ml.

Les levains suivants ont été préparés :

- N° 1 : *S. lactis*, *S. cremoris* et *L. plantarum*.
- N° 2 : *S. lactis*, *S. cremoris*, *L. plantarum* et *Micrococcus* sp.
- N° 3 : *S. lactis*, *S. cremoris*, *L. plantarum*, *S. faecalis*, var. *liquefaciens* et *S. faecium*.
- N° 4 : *S. lactis*, *S. cremoris*, *L. plantarum*, *S. faecium* et *Micrococcus* sp.
- N° 5 : *S. lactis*, *S. cremoris*, *L. plantarum* et *S. faecalis*, var. *liquefaciens*.
- N° 6 : *S. lactis*, *S. cremoris*, *L. plantarum*, *S. faecalis*, var. *liquefaciens*, *S. faecium* et *Micrococcus* sp.

La matière sèche et les fractions azotées ont été déterminées, dans tous les cas, à la fin de la maturation.

La figure 1 présente les valeurs atteintes par l'azote soluble et l'azote non-protéique ; la figure 2 celles obtenues pour l'azote ammo-

fig. 1

Valeurs atteintes par l'azote soluble et non-protéique à la fin de la maturation, dans les fromages fabriqués au laboratoire avec divers levains constitués par la flore lactique et différentes combinaisons de microcoques et entérocoques. Les lots n^{os} 7 et 8 correspondent aux fromages élaborés artisanalement avec du lait cru.

fig. 2

Valeurs atteintes par l'azote ammoniacal et aminé (substances positives au réactif de ninhydrine) à la fin de la maturation dans les fromages fabriqués au laboratoire avec divers levains constitués par la flore lactique et différentes combinaisons de microcoques et entérocoques. Les lots n^{os} 7 et 8 correspondent aux fromages élaborés artisanalement avec du lait cru.

niacal et pour les substances positives au réactif de ninhydrine. Dans ces deux cas les lots numéros 7 et 8 correspondent aux fromages élaborés avec du lait cru, par les procédés artisanaux décrits précédemment [10].

Les résultats obtenus ont permis d'inférer que, dans la maturation de ce type de fromage, le rôle fondamental est dévolu à la flore typiquement lactique (*S. lactis*, *S. cremoris* et *L. plantarum*), et aux streptocoques du groupe D de Lancefield. Pour vérifier cette hypothèse, divers lots de fromages ont été fabriqués à échelle semi-industrielle, en employant les levains suivants :

- N^o 1 : *S. lactis*, *S. cremoris*, *L. plantarum*, *S. faecalis*, var. *liquefaciens* et *S. faecium*.
- N^o 2 : *S. lactis*, *S. cremoris*, *L. plantarum* et *S. faecalis*, var. *liquefaciens*.
- N^o 3 : *S. lactis*, *S. cremoris*, *L. plantarum* et *S. faecalis*, var. *liquefaciens* (dans ce cas, la souche de *S. faecalis*, var. *liquefaciens* a

été inoculée à une dilution égale au 1/1000 de celle utilisée pour le lot précédent).

N° 4 : Identique au précédent, sauf sur le point suivant : la mise en saumure a été supprimée et remplacée par le salage du lait à la concentration de 0,05 p. 100.

N° 5 : *S. lactis*, *S. cremoris*, *L. plantarum* et *S. faecium*.

La matière sèche et le contenu en azote des fractions azotées les plus significatives ont été déterminés à la fin de la maturation, sur l'ensemble des lots de fromages. Les figures 3 et 4 présentent les résultats obtenus. Les lots n°s 6 et 7 correspondent aux fromages élaborés à partir de lait cru par les procédés artisanaux [10].

Tous ces fromages, hormis ceux du lot n° 4, ont été soumis à l'analyse sensorielle et notés. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 1 (les fromages du lot n° 6 ont été élaborés artisanalement à partir du lait cru).

fig. 3

Valeurs atteintes par l'azote soluble et non-protéique à la fin de la maturation, dans les fromages fabriqués à l'échelle semi-industrielle. Les lots n°s 6 et 7 correspondent aux fromages élaborés artisanalement avec du lait cru.

fig. 4

Valeurs atteintes par l'azote ammoniacal et aminé (substances positives au réactif de ninhydrine) à la fin de la maturation, dans les fromages fabriqués à l'échelle semi-industrielle. Les lots n°s 6 et 7 correspondent aux fromages élaborés artisanalement avec du lait cru.

TABLEAU 1

Notes atteintes par chacune des caractéristiques organoleptiques
et ponctuation obtenue par la qualité organoleptique globale
de chaque lot de fromage

Lot de fromage	Note (sur 100)				
	N° 1	N° 2	N° 3	N° 5	N° 6
Saveur	55,00	93,75	92,50	17,50	94,08
Odeur	43,04	52,77	62,50	13,75	72,50
Couleur	40,00	85,00	86,08	36,25	88,34
Consistance	51,25	42,50	85,00	15,00	78,75
Qualité organoleptique globale	50,30	75,08	84,83	18,53	86,44

DISCUSSION

Expériences réalisées au laboratoire

L'étude des résultats obtenus dans l'analyse des fractions azotées les plus significatives pour les fromages élaborés expérimentalement au laboratoire suggère que :

1° L'association des streptocoques lactiques et de *L. plantarum* ne produit qu'une solubilisation très limitée de la caséine, mais semble, par contre, contribuer très efficacement à la dégradation finale des composants azotés. Dans ce sens, il convient de remarquer que *L. plantarum* ne possède qu'une faible activité protéolytique [14] et que la capacité de dégradation des protéines par *S. lactis* et *S. cremoris* est peu connue [3, 15]. D'autre part, il est probable que toute protéolyse observée est due à la présure.

2° Les souches de microcoques utilisées ne contribuent qu'à peine à l'action protéolytique ; cette inactivité peut s'expliquer par leur disparition rapide du fromage, dès les premières étapes de la maturation [10, 11].

3° *S. faecium* ne contribue pas non plus à la protéolyse. Ceci peut être déduit de la similitude observée entre les valeurs atteintes par les fractions azotées dans les fromages fabriqués avec des cultures mixtes comprenant ce germe et des bactéries lactiques, et dans les

fromages élaborés avec ces seuls germes lactiques. Il convient de remarquer que certains auteurs [2] considèrent *S. faecium* comme dépourvu d'activité protéolytique bien que d'autres [12] aient détecté des protéases endo-cellulaires dans cette bactérie.

4° La protéolyse est maximale lorsque *S. faecalis*, var. *liquefaciens* intervient dans l'affinage des fromages. Il est normal que ceci se produise car on a détecté des endo et exo-protéases [12] ainsi que des peptidases très actives [4].

Expériences à échelle semi-industrielle et composition du levain définitif

Le degré de protéolyse atteint pour les différents fromages expérimentaux fabriqués au laboratoire, s'est révélé, dans tous les cas, être inférieur à celui observé pour les fromages fabriqués avec du lait cru. Ceci a été attribué aux différences dans les conditions expérimentales, essentiellement pour une basse humidité relative.

L'étude des résultats obtenus dans l'analyse des fractions azotées les plus significatives, pour les fromages élaborés à l'échelle semi-industrielle, démontre la faible contribution de *S. faecium* à la protéolyse de ces fromages. Elle démontre également que l'association des germes lactiques et de *S. faecalis*, var. *liquefaciens* conduit à un degré de protéolyse comparable, tant en extension qu'en profondeur, à celle qui caractérise les fromages élaborés à partir de lait cru.

Le calcul de la qualité organoleptique globale permet de conclure que la contribution aux caractéristiques finales du fromage type « Ulloa » est due à la prolifération de *S. faecalis*, var. *liquefaciens*. Le tableau 1 met en évidence les notes élevées atteintes par ceux des fromages qui ont été fabriqués avec les germes lactiques et *S. faecalis*, var. *liquefaciens*, spécialement en ce qui concerne la saveur (qui dépend étroitement de l'activité microbienne). D'autre part, leur qualité organoleptique globale s'est révélée similaire à celle du lot fabriqué artisanalement avec du lait cru (n° 6 du tab. 1).

La démonstration de la contribution de *S. faecalis*, var. *liquefaciens* ou d'autres entérocoques à la qualité organoleptique du fromage concorde avec les études réalisées par d'autres auteurs [1, 5, 6, 7, 8, 9 et 13] sur diverses variétés de fromages. Il a été démontré de même [5, 6, 7 et 8] que les fromages Cheddar, fabriqués avec un levain composé exclusivement d'entérocoques, sont de qualité supérieure à ceux élaborés avec la flore lactique habituelle.

Nos observations laissent peu de doute quant au fait que *S. faecalis*, var. *liquefaciens* est le principal responsable de la qualité organoleptique du fromage de type « Ulloa », et nous proposons, pour la fabrication de ces fromages à échelle industrielle et à partir de lait pasteurisé, l'emploi d'un levain constitué par *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Lactobacillus plantarum* et *Streptococcus faecalis*, var. *liquefaciens*.

Résumé

Divers levains, composés de germes lactiques (*S. lactis*, *S. cremoris* et *L. plantarum*) et de différentes combinaisons de streptocoques du groupe D de Lancefield (*S. faecium* et *S. faecalis*, var. *liquefaciens*), ainsi que de deux souches appartenant au genre *Micrococcus* ont été préparés. Toutes les souches ont été isolées à partir de fromages de la variété « Ulloa », fabriqués avec du lait cru.

Divers lots de fromages ont été élaborés avec les levains préparés et à partir de lait pasteurisé, au laboratoire ainsi qu'à l'échelle semi-industrielle.

L'analyse des résultats obtenus a été réalisée en comparant les valeurs atteintes à la fin de la maturation, par les fractions azotées les plus significatives, dans les fromages expérimentaux et dans ceux élaborés artisanalement avec du lait cru.

Les fromages fabriqués à l'échelle semi-industrielle ont été également soumis à une analyse sensorielle afin d'étudier les qualités organoleptiques.

On peut conclure que *S. faecalis*, var. *liquefaciens* joue un rôle important dans la maturation du fromage de type « Ulloa » et nous proposons, pour la fabrication de ces fromages à partir de lait pasteurisé, l'emploi d'un levain constitué par *S. lactis*, *S. cremoris*, *L. plantarum* et *S. faecalis*, var. *liquefaciens*.

Summary

« Ulloa » cheese was manufactured at laboratory and pilot plant scales from pasteurized milk using as starters several mixtures of lactic acid bacteria (*S. lactis*, *S. cremoris* and *L. plantarum*) plus two strains of *Micrococci* and the *Streptococci* of Lancefield Group D, *S. faecium* and *S. faecalis* var. *liquefaciens*, all of them isolated from « Ulloa » cheese made from raw milk.

The different batches of pasteurized milk cheese so manufactured were compared, at the end of the ripening period, with those made from raw milk in regard to the most significant nitrogen fractions as well as by means of sensory analysis.

It is concluded that *S. faecalis* var. *liquefaciens* plays a most important role in the ripening of the « Ulloa » type of cheese and the convenience, to obtain a good quality cheese from pasteurized milk, to use as starter a mixture of *S. lactis*, *S. Cremoris*, *L. plantarum* and *S. faecalis* var. *liquefaciens*.

Reçu pour publication en février 1977.

Références bibliographiques

- [1] DEANE (D. D.) (1951). — *J. Dairy Sci.*, 34, 776.
 - [2] DEIBEL (R. H.) (1964). — *Bacteriol. Rev.*, 28, 330.
 - [3] HEINEMANN (B.) (1957). — *J. Dairy Sci.*, 40, 337.
 - [4] HOKOMA (Y.) and SALLE (A. J.) (1958). — *J. Bacteriol.*, 75, 130.
 - [5] JENSEN (J. P.), REINBOLD (G. W.), WASHAM (C. J.) and VEDAMUTHU (E. R.) (1973). — *J. Milk Food Technol.*, 36, 613.
 - [6] JENSEN (J. P.), REINBOLD (G. W.), WASHAM (C. J.) and VEDAMUTHU (E. R.) (1975). — *J. Milk Food Technol.*, 38, 3.
 - [7] JENSEN (J. P.), REINBOLD (G. W.), WASHAM (C. J.) and VEDAMUTHU (E. R.) (1975). — *J. Milk Food Technol.*, 38, 78.
 - [8] JENSEN (J. P.), REINBOLD (G. W.), WASHAM (C. J.) and VEDAMUTHU (E. R.) (1975). — *J. Milk Food Technol.*, 38, 142.
 - [9] LANE (C. B.) (1934). — *Iowa St. Coll. J. Sci.*, 9, 173.
 - [10] ORDONEZ (J. A.) et BURGOS (J.) (1977). — *Le Lait*, n° 563-564.
 - [11] ROBERTSON (P. S.) and PERRY (K. D.) (1961). — *J. Dairy Res.*, 28, 245.
 - [12] SCHMIDT (J. L.) et LENOIR (J.) (1972). — *Le Lait*, n° 518, 536.
 - [13] TITSLER (R. P.), SANDERS (G. P.), LOCHRY (H. R.) and SAGER (O. S.) (1948). — *J. Dairy Sci.*, 31, 716.
 - [14] TOURNEUR (C.) (1972). — *Le Lait*, n° 513-514, 149.
 - [15] WILLIAMSON (W. T.) and SPECK (M. L.) (1963). — *J. Dairy Sci.*, 45, 164.
-