Les acides aminés du fromage téléme

par

A. POLYCHRONIADOU et J. VLACHOS

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

I. INTRODUCTION

La dégradation des protéines tient la place principale dans la chaîne compliquée des changements biochimiques qui ont lieu pendant la maturation du fromage. La quantité et le rapport relatif des acides aminés libres est un des facteurs principaux qui influencent la saveur des fromages sans déprécier la grande valeur des acides aminés libres à l'alimentation, grâce à leur absorption immédiate par la muqueuse intestinale.

En Grèce, la production et la consommation du fromage téléme se trouve, par rapport aux autres types de fromage, à la première place. Par conséquent il est de grand intérêt de connaître sa composition et les modifications qu'il subit pendant la fabrication et l'affinage.

Une publication précédente [10] comprend les résultats d'une étude sur la protéolyse pendant la maturation du fromage téléme. Le présent travail a pour but l'étude des acides aminés totaux et libres du téléme et de la fluctuation de leur concentration au cours de la maturation.

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Fabrication du fromage

Le fromage étudié est fabriqué dans la fromagerie de la ferme universitaire de Thessalonique, à partir de lait de brebis additionné de 10 p. 100 de lait de chèvre. Il s'agit de lait de grand mélange provenant de la citerne d'une fromagerie.

Le lait a été thermisé à 68° C pour 30 s, refroidi à 32° C, inoculé d'une culture de *Str. thermophilus* et de *Lb. bulgaricus* 1:1 dans un rapport de 0,5 p. 100 et, après un temps de 20 mn, coagulé par pré-

sure en poudre Hansen. La technologie de fabrication du fromage télémé est déjà décrite dans un article précédent [9].

II.2. Analyses chimiques

La maturation des fromages est suivie pendant 4 mois. Le prélèvement d'échantillons pour les analyses est effectué à cinq stades : caillé, fromage de 15, 30, 60 et 120 j.

La teneur en eau est déterminée selon la méthode de la F.I.L. [2] et l'azote total selon Kjeldahl. Le pH des échantillons et l'azote soluble à 12 p. 100 TCA (NPN) sont aussi déterminés. Tous les réactifs utilisés étaient de pureté analytique.

II.3. Détermination des acides aminés

A chaque échantillon de fromage nous avons déterminé les acides aminés libres et totaux.

L'échantillon, après trituration en fines particules, est desséché à 20° C sous vide et dégraissé à l'aide d'éther sulfurique dans un appareil Soxhlet. Après l'évaporation complète de l'éther, le fromage sec et dégraissé est de nouveau trituré en poudre fine et gardé dans des vases hermétiquement clos dans une chambre de congélation à -12° C.

De l'échantillon du fromage préparé comme ci-dessus 40 mg sont hydrolysés à l'aide de 10 ml 6N HCl à 110° C $\pm$ 1, pendant 24 h sous vide dans un tube d'essai scellé par fusion. L'échantillon hydrolysé est filtré, le précipité est lavé à plusieurs reprises par de l'eau bidistillée et l'ensemble des filtrats est évaporé à sec par un évaporateur rotatif à 40° C sous vide. Le résidu est dissous dans 45 ml d'un tampon citrique pH 2,2 additionné de 5 ml d'une solution 5 μ M/ml de norleucine. Du liquide ainsi préparé 1 ml a servi à la détermination des acides aminés totaux.

Une autre partie (1,50 g) de l'échantillon du fromage sec et dégraissé est manipulée avec 50 ml d'eau à 75° C pour l'extraction des substances solubles. La suspension est filtrée et 25 ml du filtrat sont additionnés de 75 ml d'alcool éthylique 95 p. 100 pour la précipitation des protéines, séparées ensuite par une seconde filtration [5]. Soixante ml du filtrat clair sont évaporés à sec par un évaporateur rotatif à 40° C sous vide. Le résidu est dissous dans 9,5 ml de tampon citrique pH 2,2 additionné de 0,5 ml d'une solution 5 μ M/ml de norleucine. Du liquide ainsi préparé 2 ml ont servi à la détermination des acides aminés libres.

La séparation et détermination des acides aminés est faite à l'aide d'un amino-analyseur Unichrom Beckman selon Spackman *et al.* [13]. Les tampons utilisés pour l'élution étaient des tampons citriques d'un pH 3,28 et 4,25 pour les acides aminés, acides et neutres, et pH 5,28 pour les acides aminés basiques. La température des colonnes était de 55° C. La norleucine est utilisée comme étalon interne.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Analyses chimiques

Les résultats des analyses chimiques du fromage sont donnés dans le tableau 1. Comme on peut voir, les fluctuations de l'humidité, du pH et de l'azote total sont significatives seulement entre le jour de fabrication et les 15 jours.

L'humidité décroît considérablement à la suite de la sortie du sérum qui entraîne avec lui une quantité importante de matières azotées (10,5 p. 100 environ). En même temps, grâce à l'action des ferments lactiques, l'acidité s'accroît et le pH baisse. Le niveau de ces trois paramètres reste invariable après les 15 jours.

TABLEAU 1

Changement de constituants du téléme au cours de la maturation

	Durée de la maturation (jours)					LSD _{0,05}
	0	15	30	60	120	
Humidité p. 100	57,67	53,61	53,87	53,62	53,34	1,47
pH	6,38	4,88	4,84	4,81	4,92	0,13
Azote total (g p. 100 g de matière sèche)	6,50	5,82	5,73	5,73	5,71	0,27
Protéines (N × 6,37)	41,40	37,07	36,50	36,50	36,37	
NPN (g p. 100 g de matière sèche)	0,238	0,345	0,468	0,685	0,977	0,148

Par contre, l'augmentation de l'azote soluble à 24 p. 100 TCA (NPN) n'est pas grande pendant le 1^{er} mois de la vie du fromage. Mais ensuite elle devient significative, tant entre 30 et 60 j que entre 60 et 120 j. Ainsi, à la fin du 4^e mois le NPN dépasse le double du NPN du 1^{er} mois.

III.2. Acides aminés totaux

Les acides aminés totaux (A.A.T.) du fromage pendant la maturation sont donnés dans le tableau 2. Comme on peut le constater, l'en-

TABLEAU 2

Teneur en acides aminés totaux du fromage téléme au cours de la maturation
(g pour 100 g de matière sèche du fromage)*

Acides aminés	Durée de la maturation (jours)			LSD _{0,05}
	0	60	120	
Lysine	2,249	2,096	2,024	0,179
Histidine	0,751	0,786	0,790	0,175
Arginine	1,006	0,894	0,872	0,140
Acide aspartique	2,222	2,274	2,122	0,308
Tréonine	1,213	1,252	1,205	0,176
Sérine	1,991	1,792	1,557	0,630
Acide glutamique	7,154	7,267	6,572	0,823
Proline	3,843	3,853	3,650	0,310
Glycine	0,558	0,562	0,516	0,101
Alanine	0,933	0,988	0,821	0,250
Valine	1,768	1,555	1,687	0,418
Méthionine	0,782	0,592	0,660	0,242
Isoleucine	1,248	1,346	1,281	0,238
Leucine	3,101	3,145	2,741	0,374
Tyrosine	1,624	1,626	1,395	0,248
Phénylalanine	1,575	1,706	1,482	0,268
Total	32,017	31,734	29,410	

* Les chiffres sont les moyennes de huit fabrications.

semble des acides aminés décroît peu à peu sans que cette décroissance arrive à des niveaux significatifs. C'est seulement la teneur en leucine qui diminue considérablement entre 60 et 120 j, ainsi que celle en lysine entre 0 et 120 j.

En ce qui concerne le rapport entre les différents acides aminés des protéines du fromage, l'acide glutamique occupe la première place avec ses 22 p. 100. Ce fait est en concordance avec d'autres auteurs bien qu'ils aient travaillé sur des fromages de types différents [3, 15]. D'ailleurs l'acide glutamique est le prédominant entre les acides aminés des protéines du lait et du yoghourt [6, 7, 15].

La proline, la leucine et l'acide aspartique constituent les 29 p. 100 de l'ensemble et le reste (49 p. 100) est occupé par les autres acides aminés.

Dans le fromage âgé de 2 mois le taux des acides aminés constitue les 87 p. 100 des protéines ($N \times 6,37$) tandis qu'à la fin du 4^e mois

l'ensemble des acides aminés ne correspond qu'aux 81 p.100 des protéines. Ce fait conduit à la conclusion que, pendant la dégradation des protéines au cours de la maturation, une partie de l'azote des acides aminés passe à des constituants azotés ne réagissant pas avec la ninhydrine et ne pouvant pas être déterminés par l'analyse des acides aminés, tandis qu'une autre partie sort dans le sérum qui entoure le fromage.

III.3. Acides aminés libres

La fluctuation de la teneur en acides aminés libres (A.A.L.) pendant la maturation du fromage est donnée dans le tableau 3 et la figure 1. Aucun des A.A.L. ne présente une augmentation importante jusqu'à la fin du 1^{er} mois. Mais ensuite la plupart des acides aminés sont libérés avec une vitesse beaucoup plus grande, ainsi qu'on peut constater des différences significatives à leur concentration entre 30 et 60 j. Cette haute concentration en A.A.L. est accompagnée par le développement du goût caractéristique du téléme mûr.

Après 60 j le rythme d'accumulation des A.A.L. se ralentit, à l'exception de la lysine, phénylalanine, glycine, leucine et, moins, de l'alanine et isoleucine dont la teneur s'accroît significativement. Il est à citer ici que les A.A.L. du caillé constituent seulement le 0,4 p. 100 de l'ensemble des A.A.T., tandis que dans le fromage de 2 mois ils font le 1,9 p.100 et dans le fromage de 4 mois ils atteignent les 3,1 p. 100 des A.A.T. (huit fois plus que dans le caillé).

Par contre, Kapac-Parkaceva *et al.* [4], étudiant un fromage blanc à pâte molle, remarquent que la plus grande concentration d'A.A.L. s'effectue entre 15 et 30 j, suivie d'une diminution de leur quantité jusqu'aux 60 j que dure l'étude du fromage. Ce fait est assez curieux pour un fromage blanc de la région balkanique où la protéolyse intense pendant la maturation des fromages de ce type est prolongée jusqu'au 3^e mois à moins que l'affinage eût lieu à des conditions différentes (température, pH, etc.) ou dans un excès de saumure. Alors la maturation s'accomplit dans un délai plus court et, en même temps, l'échange de composants et d'ions entre le fromage et l'eau qui l'entoure est facile [8], d'où la perte d'une partie des constituants solubles du fromage.

Les variations sont aussi remarquées en ce qui concerne les quantités respectives des divers A.A.L. pendant la maturation. Au caillé la teneur en proline est la plus grande, suivie de l'alanine, tandis qu'au fromage mûr (120 j) c'est la leucine qui tient la place prédominante (18 p. 100) suivie de la phénylalanine, la lysine et la valine. Ces quatre acides aminés font les 50 p. 100 de l'ensemble des A.A.L. La proline, la sérine, l'arginine et l'alanine occupent les 23 p. 100, tandis que tous les autres acides aminés atteignent à peine les 27 p. 100 de l'ensemble.

Il est remarquable le fait que les acides glutamique et aspartique et la thréonine, qui constituent les 25 p. 100 des A.A.L. du caillé, se

TABLEAU 3

Teneur en acides aminés libres du fromage téléme au cours de la maturation (mg pour 100 g de matière sèche du fromage)*

Acides aminés	Durée de la maturation (jours)					LSD _{4,4}	LSD _{4,8}	LSD _{4,7}	LSD _{8,8}	LSD _{7,8}
	0	15	30	60	120					
Lysine	7,42	15,02	24,13	49,57	98,92	32,31	27,97	28,66	22,85	23,67
Histidine	3,75	3,02	5,68	11,77	13,85	8,32	7,20	7,38	5,89	6,10
Arginine	3,54	19,31	23,15	34,74	47,11	103,65	89,73	91,93	73,31	75,95
Acide aspartique	10,07	6,04	7,24	16,44	27,63	47,60	41,20	42,21	33,66	34,87
Thréonine	12,49	6,32	7,24	20,68	28,90	14,75	12,76	13,08	10,43	10,80
Sérine	7,02	16,73	17,29	38,31	48,79	18,87	16,33	16,73	13,34	13,82
Acide glutamique	8,97	10,82	16,50	35,35	23,93	25,94	22,45	23,00	18,35	19,01
Proline	19,25	14,62	17,71	49,59	65,04	30,10	26,05	26,69	21,29	22,05
Glycine	1,75	2,32	2,62	7,31	12,89	4,94	4,28	4,39	3,50	3,62
Alanine	14,73	14,07	13,58	32,95	46,19	17,18	14,87	15,24	12,15	12,59
Valine	7,53	24,45	25,10	64,57	90,15	40,89	35,39	36,26	28,92	29,96
Méthionine	2,36	4,18	7,20	20,02	27,38	11,13	9,64	9,87	7,87	8,16
Isoleucine	2,69	9,71	9,50	29,11	43,35	16,34	14,14	14,49	11,55	11,97
Leucine	9,37	33,43	40,49	94,85	162,99	63,92	55,33	56,69	45,20	46,83
Tyrosine	3,99	11,89	9,62	15,13	17,19	7,79	6,74	6,91	5,51	5,71
Phénylalanine	4,80	17,98	23,79	54,48	100,66	30,86	26,71	27,37	21,83	22,61
Citroulline	0,61	0,20	0,80	6,52	11,36	5,71	4,94	5,06	4,04	4,18
Tryptophane	3,91	4,18	4,08	9,41	7,30	2,94	2,54	2,61	2,08	2,15
Total	124,25	214,29	255,72	590,80	873,63					

* Les valeurs sont les moyennes de quatre échantillons pour les deux premières colonnes, de huit échantillons pour la troisième et la quatrième et de sept échantillons pour la cinquième.

fig. 1

Changements de la quantité des acides aminés libres au cours de la maturation du fromage téléme.

trouvent dans le fromage mûr (120 j) en quantités comparativement petites. Spécialement, l'acide glutamique, le principal entre les acides aminés des protéines du fromage, atteint à peine les 2,7 p. 100. Il est possible que les proportions basses de ces amino-acides dans l'ensemble des A.A.L. sont dues à la place que ces amino-acides tiennent dans la chaîne polypeptidique des caséines, place probablement située loin des points où les liaisons peptidiques sont rompues par les enzymes protéolytiques pendant la maturation. Il est aussi probable que les acides aspartique et glutamique, bien qu'ils soient produits en quantités considérables, sont rapidement transformés en acides acétoniques, vu leur grande aptitude de transamination réciproque. Ce fait aurait comme résultat l'impossibilité de détermination de la quantité totale de ces acides aminés.

L'absence totale de l'acide aspartique au fromage « Ulloa » mûr est aussi remarquée par Ordonez et Burgos [12], bien qu'il était présent au caillé de ce fromage. Une diminution de l'acide glutamique libre est aussi observée par Miletic [11], mais elle est placée à un moment différent puisqu'il s'agit d'un fromage à pâte dure. De même, Dolezalek [1] a remarqué au fromage à pâte molle « Brynza » une teneur basse en acides aspartique et glutamique, mais aussi en leucine.

Par contre Kapac-Parkaceva *et al.* [4] constatent une augmentation de la teneur en acide aspartique pendant la maturation d'un fromage blanc à pâte molle, mais sans la suivre plus de 60 j. Vamos-Vigyazo *et al.* [14] citent aussi l'acide glutamique comme un des principaux A.A.L. du fromage hongrois « Trappist » (fromage à pâte dure du type de Port-Salut) dont la maturation n'est suivie que pendant 30 j.

Si l'on fait la comparaison entre l'accumulation des A.A.L. et l'augmentation du N.P.N. on peut constater que pour ces deux groupes de matières azotées l'accroissement significatif coïncide avec l'accomplissement de 1 mois de leur fabrication ; il continue à des niveaux significatifs jusqu'à 4 mois. On peut cependant observer qu'à 60 et à 120 j les A.A.L. constituent une beaucoup plus grande partie du N.P.N. qu'ils le font à 30 j. Ceci peut être justifié par la protéolyse prolongée.

Il faut enfin signaler que le fromage téléme contient en état libre tous les acides aminés essentiels et, même, la lysine, la valine, la leucine et la phénylalanine en quantités considérables.

Résumé

Les acides aminés du fromage téléme tant comme éléments de ses protéines qu'en état libre, ainsi que les fluctuations de leurs quantités au cours de 4 mois de maturation ont fait l'objet du présent travail.

La quantité des acides aminés totaux diminue légèrement de la fabrication aux 120 j sans que cette réduction soit significative. L'acide glutamique, la proline, la leucine et l'acide aspartique sont les principaux amino-acides des protéines du téléme et constituent les 51 p. 100 de la quantité totale.

Les changements de la quantité des acides aminés libres sont beaucoup plus évidents et, après les 30 jours, à des niveaux significatifs. L'accroissement intense de la concentration des acides aminés libres (à 30-60 j) est accompagné par le développement du goût caractéristique du téléme mûr. L'acide aminé prédominant est la leucine (18 p. 100 de l'ensemble des acides aminés libres) qui avec la phénylalanine, la lysine et la valine constituent les 50 p. 100 de l'ensemble des acides aminés libres.

Ce qui est caractéristique pour le rôle du téléme comme aliment est que ces quatre amino-acides appartiennent au groupe des acides aminés essentiels.

Summary

The free amino acids of white pickled cheese (teleme) as well as its total amino acid composition at different stages of the ripening period are measured by ion-exchange column chromatography.

The amount of total amino acids is slightly reduced from the one day old curd to the four months old cheese without this reduction being statistically significant. The glutamic acid, proline, leucine and aspartic acid are the main amino acids of teleme proteins making up 51 p. 100 of the total amino acids.

Changes in the amount of free amino acids are more obvious and, after 30 days, they appear in levels of statistical significance. The main accumulation of free amino acids (30 to 60 days) is accompanied by the characteristic taste development of the ripened teleme cheese. Leucine is found in the highest amounts (18 p. 100 of the total free amino acids) which along with phenylalanine, lysine and valine make up 50 p. 100 of the total free amino acids. All these four amino acids are among the essential ones and this fact makes teleme cheese important as a food.

Reçu pour publication en février 1979.

Bibliographie

- [1] DOLEZALEK (J.) (1956). — *Prumysl potravin. Praha*, 175. In *Le Lait*, 1958, 38, 520.
- [2] FÉDÉRATION INTERNATIONALE DE LAITERIE (1958). — Norme d'analyse F.I.L.-I.D.F., n° 4.

- [3] JAMALIAN (J.) and PELLETT (P. L.) (1968). — *J. Sci. Food Agric.*, 19, 378.
 - [4] KAPAC-PARKACEVA (N.), BAUER (O.) et CIZBANOVSKI (T.) (1974). — *Mljekarstvo*, 24, 200.
 - [5] KOSIKOWSKY (F. V.) (1951). — *J. Dairy Sci.*, 34, 235.
 - [6] LAVOILLE (B.), ALARY (J.), SERRE (J. C.) et CŒUR (A.) (1976). — *Ann. Fals. Exp. Chim.*, 69, 535.
 - [7] Mc KENZIE (H. A.) (1971). — Milk Proteins. Vol. II, *Academic Press.*, New York, 139-193.
 - [8] MANOLKIDIS (C.), POLYCHRONIADOU (A.) et ALICHANIDIS (E.) (1969). — *Hellen. Kten.*, 12, 145.
 - [9] MANOLKIDIS (C.), POLYCHRONIADOU (A.) et ALICHANIDIS (E.) (1970). *Le Lait*, 50, 38.
 - [10] MANOLKIDIS (C.), POLYCHRONIADOU (A.) et ALICHANIDIS (E.) (1970). — *Le Lait*, 50, 128.
 - [11] MILETIC (S.) (1970). — XVIII^e Congrès Intern. Laiterie, Sydney (Australia), vol. 1 E, 388.
 - [12] ORDONEZ (J. A.) et BURGOS (J.) (1977). — *Le Lait*, 57, 416.
 - [13] SPACKMAN (D. H.), STEIN (W. H.) and MOORE (S.) (1958). — *Anal. Chem.*, 30, 1190.
 - [14] VAMOS-VIGYAZO (L.), EL-NOCKRASHY (S.) and GAJZAGO (I.) (1975). — *Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych*, 167, 145.
 - [15] DE VUYST (A.), VERVACK (W.), VANBELLE (M.) et FOULON (M.) (1973). — *Le Lait*, 53, 625.
-