Protéolyse et texture des fromages à pâte cuite pressée. I. Influence de l'activité de l'eau

A Delacroix-Buchet *, P Trossat **

INRA, station de recherches en technologie et analyses laitières, 39800 Poligny, France

(Reçu le 23 décembre 1988; accepté le 31 décembre 1990)

Résumé — Un Gruyère de 45 kg a été découpé avant salage en 14 petits fromages identiques de 900 g qui ont été salés en saumure, par paires, durant 0, 1, 2, 4, 6, 8 et 24 h. Les petits fromages ont ensuite été affinés 2 semaines à 13 °C et 4 semaines à 18 °C sous film plastique. Les différences de temps de saumurage ont permis de faire varier la teneur en NaCl dans l'humidité des fromages, à 6 semaines, de 0 à 4%. La variation de teneur en NaCl a induit une variation inverse de l'activité de l'eau des fromages de 0,966 à 0,981 ($R = -0,965$, $P < 0,001$) mais n'a pas eu d'incidence sur la teneur en azote soluble dans l'acide phosphotungstique (azote non protéique) des fromages. Les effets de l'activité de l'eau sur la protéolyse et la texture des petits fromages ont été analysés en relation avec la teneur en NaCl mesurée dans l'humidité des fromages.

Les résultats montrent que l'activité de la plasmine sur la caséine β (apparition des fractions γ) augmente jusqu'à une activité de l'eau de 0,972 (soit une teneur en NaCl dans l'humidité des petits fromages de 2%) puis diminue ensuite. La protéolyse de la caséine αs_1 décroît avec l'activité de l'eau des fromages : parallèlement, la cohésion de la pâte du fromage mesurée par la déformation à la rupture augmente. La protéolyse secondaire, mesurée par les rapports de l'azote soluble dans l'eau à l'azote total et de l'azote soluble dans l'acide phosphotungstique à l'azote total, varie peu pour les valeurs d'activité de l'eau mesurées.

fromage / Gruyère / protéolyse / texture / activité de l'eau

Summary — *Proteolysis and texture of Gruyère type cheese. I. Influence of water activity.* One 45-kg loaf of Gruyère cheese was cut before salting into 14 small identical cheeses of 900 g which were salted in brine in pairs for 0, 1, 2, 4, 6, 8 and 24 h. These small cheeses were wrapped in plastic bags and ripened for 2 wk at 13 °C followed by 4 wk at 18 °C. The differences in brine salting times produced differences in the salt in the moisture content of the 6-wk-old cheeses from 0–4%. The NaCl content variations led to an opposite variation in the water activity of the cheeses from 0.966–0.981 ($R = -0.965$, $P < 0.001$) and had no influence on the phosphotungstic acid-soluble nitrogen (non protein nitrogen) content of the cheese. Proteolysis and texture of the cheeses were analysed in relation to their water activity. Results showed that the plasmin activity on β -casein (appearance of γ fractions) increased up to a water activity of 0.972 (ie salt in moisture content of 2%), followed by a regular decrease. The αs_1 casein breakdown decreased with cheese water activity, lowering the cohesiveness of the cheese. Secondary proteolysis, as measured by the ratios water-soluble N/total N and phosphotungstic acid-soluble N/total N, varied little between the water activity values measured in the cheeses.

cheese / Gruyère / proteolysis / texture / water activity

* Adresse actuelle : INRA, station de recherches laitières, 78350 Jouy-en-Josas, France

** Stagiaire de DEA. Université de Franche-Comté, Besançon, France. Adresse actuelle : Institut technique de Gruyère, 70190 Rioz, France

INTRODUCTION

Au cours de l'affinage, les caséines, constituants principaux du fromage, subissent une dégradation enzymatique due à l'action cumulée des enzymes natives du lait, des enzymes coagulantes (présure) et des enzymes bactériennes (levain et psychrotrophes). Cette protéolyse est déterminante dans le développement de la texture et de l'arôme caractéristique des fromages (Adda *et al*, 1982).

La part respective de chacune de ces enzymes ou systèmes enzymatiques, dans la qualité finale du fromage, dépend de nombreux paramètres de fabrication et d'affinage. Les paramètres de fabrication déterminent les cinétiques de coagulation, d'acidification et d'égouttage du caillé qui aboutissent suivant les technologies employées à des valeurs caractéristiques de pH et de proportion de caséines dans l'humidité des fromages au démoulage (Lawrence *et al*, 1987). Ils interviennent également dans les quantités d'enzymes résiduelles présentes dans le caillé. Les conditions d'affinage (salage des fromages, température et humidité des caves, présence ou non d'une flore de surface) modifient ensuite les paramètres du caillé tels que pH, Eh et activité de l'eau (*Aw*) (Adda *et al*, 1982) dont dépend étroitement l'activité des enzymes.

Très peu d'études ont été réalisées sur l'activité de l'eau des fromages (Ruegg et Blanc, 1977; Mathlouthi *et al*, 1980; Marcos *et al*, 1981) alors que les processus physico-chimiques de l'affinage sont conditionnés par la disponibilité de l'eau dans ce type de milieu. Ruegg et Blanc (1977) et Marcos *et al* (1981) ont montré que l'activité de l'eau d'un fromage est surtout déterminée par sa teneur en eau mais aussi sa teneur en constituants de faible poids moléculaire (NaCl, azote non protéique) et son pH.

Le salage du fromage peut être considéré comme une technique susceptible d'abaisser l'activité de l'eau (Hardy, 1979).

L'influence du chlorure de sodium sur la protéolyse des caséines a été plus largement étudiée. Cependant, si de nombreux travaux ont été réalisés sur l'activité des protéases en milieu salin (Fox et Walley, 1971; Sanogo *et al*, 1987), peu de travaux ont été menés dans des milieux salés aussi complexes que le fromage. À notre connaissance, seuls existent des travaux sur Cheddar (Phelan *et al*, 1973; Thomas et Pearce, 1981), sur Meshanger (Noomen, 1978a, b) et sur Bleu (Godinho et Fox, 1982).

Un essai a donc été conduit pour connaître l'influence de l'*Aw* d'un fromage type Gruyère sur sa protéolyse et sa texture en induisant des variations de l'*Aw* par des variations de la teneur en NaCl des fromages.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Protocole expérimental

L'objectif de l'essai étant de mesurer l'incidence de l'activité de l'eau (*Aw*) sur la protéolyse et la texture d'un fromage à pâte cuite pressée, un Gruyère de 45 kg a été découpé, avant salage, en petits fromages de 900 g, salés ensuite à différentes teneurs en chlorure de sodium (NaCl).

Le fromage initial a été fabriqué selon une technologie classique, à partir de lait cru, ensemençé avec 1% de streptocoques thermophiles, 0,6% de lactobacilles thermophiles et coagulé avec 0,18% d'extrait de présure liquide à 800 mg de chymosine active par litre. Après pressage, le fromage âgé de 20 h a été découpé en petits fromages. Pour cela, 7 cylindres ont été prélevés à l'emporte-pièce, sur un même cercle situé à environ mi-rayon du fromage. Après élimination des extrémités de chaque cylindre, 2 fromages ont été découpés dans leur hauteur. Nous avons ainsi obtenu 14 petits fromages

identiques, homogènes dans leur composition, de forme cylindrique, d'un diamètre de 15 cm et d'une hauteur en talon de 3,5 cm. Deux des petits fromages n'ont pas été salés, les 12 autres, répartis en 6 paires, ont été salés dans une saumure saturée en NaCl, à 13 °C et pH 5,20, respectivement 1, 2, 4, 6, 8 et 24 h.

Pour tenir compte de la taille réduite des fromages et empêcher tout développement d'une flore à la surface des fromages, les 14 petits fromages ont été traités en surface par une pulvérisation d'antifongique (pyrimidine) et affinés, emballés sous film de polyéthylène semi-perméable, 2 semaines à 13 °C et 4 semaines à 18 °C.

Méthodes

Analyses chimiques

Les analyses de fromage à 20 h ont été réalisées dans les chutes, situées à mi-rayon du fromage ayant servi à la découpe des petits fromages. Ces derniers ont été analysés à 6 semaines à partir d'un secteur prélevé sur chacun d'eux.

– pH (20 h et 6 semaines) : après broyage du fromage frais, mesure avec une électrode combinée placée en contact avec le fromage tassé dans un godet. La mesure est relevée lorsque l'équilibre est atteint.

Les analyses effectuées portent sur :

– extrait sec (ES, 20 h et 6 semaines) : dosage selon la norme FIL 4A (1982);

– matière grasse (MG, 20 h) : méthode butyrométrique de Heiss (1961);

– calcium (20 h et 6 semaines) : dosage complexométrique selon la technique de Pearce (1977);

– chlorure de sodium (NaCl, 20 h et 6 semaines) : mesure réalisée à l'aide d'un chloruremètre (Corning 926) à électrode soluble d'argent, étalonné par rapport à la technique de dosage des chlorures préconisée dans la norme FIL 17A (1972);

– activité de l'eau (A_w , 6 semaines) : méthode par interpolation graphique de Landrock et Proctor (1951);

– indice d'affinage (I_A , 6 semaines) : méthode d'appréciation rapide du stade d'affinage des

fromages par la technique cryoscopique de Courroye (1987);

– azote total (20 h et 6 semaines) et fractions azotées (6 semaines) : dosage par la méthode Kjeldahl de l'azote total (NT), de l'azote soluble dans l'eau (NS) après préparation selon la méthode de Kuchroo et Fox (1982) et de l'azote soluble dans l'acide phosphotungstique (NPT) après préparation selon la technique de Gripon *et al* (1975);

– fractions caséines (6 semaines) : analyse quantitative des principales caséines et de leurs produits de dégradation (α_1 , β , α_1 -I, β dégradées, γ_1 , γ_2 et γ_3) après séparation électrophorétique des caséines et lecture densitométrique des plaques d'électrophorèse selon la technique décrite par Buchet (1987). La caséine entière est préparée en dissolvant dans 5 ml d'urée 9 mol.l⁻¹ contenant 1% de β -mercaptoéthanol, 0,3 g du culot de centrifugation obtenu lors de la préparation de l'azote soluble dans l'eau (NS). Les différentes caséines sont ensuite séparées sur gel PAGE et leurs pourcentages dans la caséine totale déterminés selon la technique décrite par Collin *et al* (1987).

Tests rhéologiques

La texture des fromages affinés a été appréciée par 2 types de tests.

Test d'extrusion

Ce test a été réalisé à 20 °C sur un cylindre de fromage d'environ 1 cm de hauteur sur 1 cm de diamètre prélevé avec la sonde de l'appareil. La force d'extrusion (kg) a été mesurée avec un extrudeur type Fira Nird Extruder équipé d'une filière de 2 mm de diamètre. C'est un indicateur de la fermeté du fromage.

Test de compression simple uniaxiale destructive

Les tests de compression ont été effectués dans une enceinte thermostatée avec le rhéomètre digital INRA (brevet Fr n° 8514870) équipé d'un capteur de 500 N. Les échantillons ont été prélevés sur toute la hauteur du fromage à l'aide d'un emporte-pièce de diamètre interne 20 mm puis on a éliminé symétriquement les parties externes de façon à obtenir des carottes cylindriques d'environ 2 cm de hauteur.

Les mesures ont été réalisées en double à 18 °C. Les éprouvettes ont été comprimées à vitesse constante (30 mm/min) jusqu'à un niveau de compression de 80% susceptible d'entraîner la rupture de l'éprouvette.

Par représentation graphique des résultats, on obtient une courbe dite de compression à partir de laquelle on détermine plusieurs paramètres (fig 1) :

- le module d'élasticité (E) ou module de Young, qui est la pente de la courbe à l'origine, représente l'élasticité du fromage. Cette valeur est déterminée dans la partie linéaire de la courbe (domaine d'élasticité linéaire) pour des déformations de l'ordre de 5%;
- la contrainte au point de rupture (ϵ_f) (en N/m² ou Pa) est obtenue au point d'inflexion de la courbe. Ce paramètre constitue un indicateur de la fermeté du fromage;
- la déformation au point de rupture (ϵ_r) calculée selon Cauchy (en %) ($\Delta H/H_0$). Cette valeur constitue un indicateur de la cohésion du fromage;
- le travail (w) (en J) réalisé pour comprimer le fromage à 80%, représenté par l'aire sous la courbe jusqu'à la rupture.

Analyses statistiques

Pour étudier les liaisons entre variables, nous avons procédé par étapes.

Tout d'abord, nous avons calculé la matrice de corrélations simples entre variables pour l'ensemble des données analytiques. Lorsque les coefficients de corrélations simples entre 2 variables étaient significatifs, nous avons en-

suite calculé les régressions linéaires simples correspondantes. Enfin, lorsqu'il nous a paru intéressant d'analyser simultanément un ensemble de variables, nous avons fait appel à une méthode d'analyse statistique multidimensionnelle : l'analyse en composantes principales (ACP). Dans notre étude, nous nous sommes inspirés de l'article de Fils-Lycaon *et al* (1988) pour caractériser, à l'aide de l'ACP, l'évolution des profils protéolytiques des fromages en fonction de leur Aw.

Les analyses statistiques ont été réalisées sur micro-ordinateur à partir du logiciel Microstat, élaboré par l'ITCF (1984).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Composition physico-chimique

Le fromage à 20 h a un extrait-sec (ES) égal à 63,61% de son poids et un pH de 5,18. Ses teneurs en matière grasse, en protéine et en calcium sont respectivement de 47,70, 46,51 et 1,58 g/100 g d'ES, valeurs normales pour un Gruyère de Comté.

La composition moyenne et la variabilité de composition des 14 petits fromages âgés de 6 semaines sont données dans le tableau I.

Il apparaît que le pH moyen augmente environ de 0,3 unité et l'ES de 0,7 g/100 g de fromage au cours des 6 semaines d'affinage. Pendant la même période d'affinage de 6 semaines, Berdagué et Grappin (1987) observent une augmentation comparable du pH moyen de 96 gruyères de Comté (+ 0,38 unité) mais très supérieure de l'ES (+ 2,3 g/100 g de fromage). L'emballage des petits fromages a donc très fortement diminué les pertes d'eau par évaporation, objectif qui était recherché.

Les teneurs en NaCl des petits fromages varient de 0,05 à 1,41 g/100 g en fonction des temps de saumurage pratiqués. La cinétique d'absorption du sel

Fig 1. Courbe de compression.
Compression curve.

Tableau I. Composition physico-chimique et texture (moyenne et écart type) des fromages de 6 semaines.*Physico-chemical composition and texture (mean and standard deviation) of 6-wk-old cheeses.*

VARIABLES <i>variables</i>	MOYENNE ET ERREUR-TYPE <i>mean and standard error</i>	MINIMUM- MAXIMUM <i>min-max</i>	ECART- TYPE <i>*SD</i>	COEFFICIENT DE VARIATION (p.100) <i>(SD/mean)x100</i>
pH <i>pH</i>	5,49 ± 0,01	5,40- 5,56	0,05	0,8
extrait sec (1) <i>dry matter</i>	64,29 ± 0,20	63,52-66,59	0,74	1,2
chlorure de sodium (1) <i>sodium chloride</i>	0,65 ± 0,11	0,05- 1,41	0,42	63,9
sel dans l'humidité (2) <i>salt in moisture</i>	1,85 ± 0,32	0,14- 4,08	1,22	65,7
activité de l'eau <i>water activity</i>	0,973 ± 0,001	0,966-0,981	0,004	0,4
calcium (2) <i>calcium</i>	1,56 ± 0,01	1,47- 1,61	0,04	2,6
azote total (NT) (3) <i>total nitrogen (TN)</i>	46,34 ± 0,11	45,83-47,06	0,39	0,9
**NS/NT (2) <i>WSN/TN</i>	11,09 ± 0,20	9,19-11,87	0,74	6,6
***NPT/NT (2) <i>PTASN/TN</i>	5,80 ± 0,15	4,91- 6,75	0,55	9,5
caséines γ (4) <i>γ caseins</i>	15,84 ± 0,99	9,52-21,86	3,71	23,4
caséine α_{s1-I} (4) <i>α_{s1-I} casein</i>	9,69 ± 0,63	5,98-13,00	2,36	24,3
indice d'affinage (5) <i>ripening index</i>	0,171 ± 0,01	0,115-0,259	0,040	24,3

(1) g/100 g de fromage (*g/100 g of cheese*). (2) p 100 (*percent*). (3) g/100 g d'extrait sec (*g/100 g of dry matter*). (4) p 100 des caséines totales (*percent of whole casein*). (5) degré Celsius (*degree Celsius*). (6) kg.

* SD : standard deviation. ** NS : azote soluble dans l'eau (*WSN: water-soluble nitrogen*). *** NPT: azote soluble dans l'acide phosphotungstique (*PTASN: phosphotungstic acid-soluble nitrogen*).

dans les fromages de petit format est comparable à celle observée lors du salage de l'Emmental (Chamba, 1988). En effet, l'accroissement de la teneur en NaCl des minifromages est bien corrélé à la racine car-

rée de la durée du saumurage exprimée en h ($R = + 0,992$, $P < 0,001$). La relation est linéaire jusqu'à 8 h de saumurage (fig 2). Le calcul de répétabilité (norme AFNOR NF X06041, 1970) de cette techni-

Fig 2. Cinétique d'absorption du sel par les Gruyères.

Kinetics of salt absorption by Gruyère type cheeses.

que de saumurage a également retenu toute notre attention. L'écart type de répétabilité s_r , la répétabilité r (exprimée par l'écart maximal obtenu entre doubles, $r = 2,77 \times S_r$ pour $P < 0,95$) et le coefficient de variation en fonction de la moyenne des valeurs obtenues ($CV_r = (S_r/X) \times 100$) sont respectivement de 0,024 g/100 g de fromage, 0,067 g/100 g de fromage et 3,7% de la moyenne des taux de sel mesurés. On peut donc estimer qu'en saumurant des minifromages *a priori* identiques, on obtient pour un temps donné de saumurage des valeurs reproductibles de la teneur en sel de ces fromages.

Le saumurage entraînant une perte d'eau des fromages (Chamba, 1988) l'ES des fromages augmente avec leur teneur en NaCl de 63,5 à 66,2 g/100 g ($R = +0,869$, $P < 0,001$).

L'activité moyenne de l'eau mesurée dans les petits fromages ($A_w = 0,973$) est proche de celle mentionnée par Ruegg et Blanc (1977) dans le Gruyère. La mesure de l' A_w par la méthode de Landrock et Proctor (1951) semble suffisamment précise pour intégrer des variations du taux de NaCl dans l'humidité des fromages de 0-4%: la corrélation entre l' A_w et la teneur en NaCl dans l'humidité des petits fro-

mages est très hautement significative ($R = -0,965$; $P < 0,001$) (fig 3).

La corrélation entre l' A_w et l'humidité du fromage est également très élevée ($R = +0,831$, $P < 0,001$).

On n'observe pas de relation linéaire entre l' A_w des fromages et leur pH mais une augmentation du pH jusqu'à une A_w proche de 0,975 puis une diminution. Marcos *et al* (1981) n'observent pas non plus de corrélation significative entre le pH et l' A_w de différents fromages.

Pour discuter les résultats sur la protéolyse, il semble donc possible d'utiliser les valeurs d' A_w . Ces valeurs prennent en compte à la fois la concentration en sels dissous et l'humidité du fromage. Elles sont par conséquent plus intéressantes que les seuls valeurs de teneur en NaCl.

Protéolyse primaire

La protéolyse primaire a été mesurée par l'apparition des fractions $\alpha s1-I$ et γ issues de l'hydrolyse respective des caséines $\alpha s1$ et β .

Pour des Gruyères âgés de 6 semaines, la proportion de fraction $\alpha s1-I$

Fig 3. Influence de la teneur en sel dans l'humidité sur l'activité de l'eau des gruyères.

Effect of salt in moisture content on water activity of Gruyère-type cheeses.

dans la caséine totale est dans notre étude très inférieure à la proportion moyenne trouvée dans des Gruyères de Comté du même âge par Berdagué et Grappin (1987) (9,7 vs 25,6%). Cependant, ces auteurs rapportent que cette proportion est très variable entre fromages (13,7 à 34,1% de la caséine totale). À âge identique des fromages, la proportion moyenne des fractions γ dans la caséine totale n'est, par contre, que légèrement inférieure, dans notre étude, à celle mentionnée par ces 2 mêmes auteurs (15,8 vs 18,3%).

La dégradation de la caséine β en fractions γ spécifiques de l'action de la plasmine est fortement influencée par l' A_w des fromages (fig 4). Elle augmente dans un premier temps avec la baisse d' A_w induite par l'accroissement de la teneur en NaCl puis diminue très fortement ensuite. Le maximum de production de fractions γ est observé pour une A_w voisine de 0,972 qui correspond à une teneur en NaCl des fromages de 0,8% (soit 2,3% dans l'humidité). Ce résultat obtenu pour des fromages type Gruyère est tout à fait comparable à celui trouvé par Noomen (1978a) pour des fromages à pâte molle type Meshanger pour lesquels l'optimum d'activité «plasmine» se situait autour de 2% de sel

dans l'humidité du fromage. Cette teneur en sel peut correspondre à l'optimum d'activité de l'enzyme ou à l'optimum de son activation. Entre des valeurs d' A_w de 0,972 et 0,966, la proportion de fractions γ dans les caséines totales chute de moitié soit d'une valeur proche de 21,0% à une valeur inférieure à 10,0%. Les fromages ayant une A_w de 0,967 contiennent 4,0% de NaCl dans l'humidité et ont une activité «plasmine», mesurée par l'apparition des fractions γ , inférieure à celle des fromages non salés.

La dégradation de la caséine α_1 en fragment α_1 -I décroît sans cesse avec l' A_w , pour la plage de variation de la teneur en NaCl étudiée dans nos fabrications fromagères ($R = +0,901$, $P < 0,001$) (fig 4). Thomas et Pearce (1981) obtiennent un résultat similaire dans du Cheddar. Ils montrent qu'en établissant à travers des blocs de Cheddar un gradient de NaCl entre 4 et 8% de sel dans l'humidité, le pourcentage de caséine α_1 dégradée diminue linéairement avec l'augmentation de la teneur en NaCl. Ce pourcentage passe respectivement de 95 à 40% pour 4 et 8% de NaCl après 1 mois d'affinage à 10 °C. Noomen (1978b) observe aussi une diminution de la protéolyse de la caséine α_1 par la présure dans des fromages à pâte molle type Meshanger ayant des teneurs en NaCl supérieures à 4% dans l'humidité. Fox et Walley (1971) et Sanogo *et al* (1987) mesurent un maximum de dégradation de la caséine α_1 par la chymosine dans des solutions salines de caséine purifiée contenant de 5–10% de NaCl. De telles concentrations en NaCl ne sont jamais rencontrées dans les Gruyères. D'autre part, il semble peu vraisemblable que l'apparition du fragment α_1 -I soit liée à la seule activité de la chymosine résiduelle dans les Gruyères, après chauffage du lait en cuve à 52–54 °C (Matheson, 1981; Garnot et Mollé, 1987). On peut penser qu'elle est plutôt due à l'activité enzy-

Fig 4. Influence de l'activité de l'eau sur la dégradation des caséines β et α_1 exprimée en pourcent de fractions γ (+) et α_1 -I (o) dans la caséine totale.

Effect of water activity on β - and α_1 casein breakdown expressed as percent of γ (+) and α_1 -I (o) fractions of whole casein.

matique des microorganismes : les lactobacilles thermophiles hydrolysent partiellement les caséines α s1 et β (El Soda et Desmazeaud, 1982; Zevaco et Gripon, 1988) et les bactéries propioniques possèdent une activité caséolytique (Searles *et al.*, 1970). Un rôle éventuel de la protéase acide du lait n'est également pas à rejeter comme le suggère Noomen (1978a) dans le fromage à pâte molle type Meshanger. Cette enzyme, stable à la chaleur, est capable de résister à l'étape du chauffage du caillé en cuve et elle dégrade la caséine α s1 pour former des fragments α s1-I (Kaminogawa *et al.*, 1980).

Protéolyse secondaire

La protéolyse secondaire a été mesurée globalement par les teneurs en azote de la fraction azotée soluble dans l'eau (NS) qui représente les polypeptides d'un poids moléculaire jusqu'à 10 000 Da et les acides aminés, et de la fraction azotée soluble dans l'acide phosphotungstique (NPT) qui regroupe les petits peptides et les acides aminés.

Les valeurs de NS exprimées en % de l'azote total sont un peu inférieures à la moyenne des valeurs mesurées par Collin

Fig 5. Influence de la teneur en sel dans l'humidité sur la protéolyse secondaire des gruyères. *Effect of salt in moisture content on secondary proteolysis in Gruyère-type cheeses.*

et al. (1987) dans des Gruyères de Comté âgés de 6 semaines (11,09 vs 15,55%). Ceci peut être lié à la plus faible dégradation de la caséine α s1 observée dans nos minifromages, elle même, peut-être, en partie liée, à une teneur moyenne en sel dans l'humidité des minifromages saumurés supérieure à celle des Gruyères de Comté emmorgés (1,85 vs 1,57 g/100 g d'H₂O). Les valeurs de NPT dans l'azote total sont, par contre, du même ordre de grandeur dans les 2 études (5,00 vs 4,85%).

La protéolyse secondaire semble peu influencée par une augmentation de la teneur en NaCl dans l'humidité des fromages de 0 à 4% (fig 5). On remarque cependant une diminution de la proportion du NS dans l'azote total des fromages contenant 4,0% de NaCl dans l'humidité c'est-à-dire ayant une *Aw* inférieure à 0,970. Par contre, il n'existe aucune relation significative entre l'*Aw* et la teneur en NPT exprimée dans l'humidité du fromage ($R = -0,470$). La variation d'*Aw* mesurée est donc bien le fait essentiel de celle de la teneur en NaCl dans l'humidité du fromage, objectif qui était recherché.

L'indice d'affinage des fromages mesuré par la technique cryoscopique est de manière très hautement significative influencé par le taux de NaCl des fromages ($R = +0,977$, $P < 0,001$) (fig 6). Ce résultat revient à dire que, pour des fromages affinés de façon identique et ayant le même âge, l'indice d'affinage des fromages les plus salés (4,0% de NaCl dans l'humidité) qui sont aussi, d'après les résultats énoncés précédemment, les moins protéolysés, est supérieur à celui des fromages moins salés et globalement plus protéolysés. L'étude de Courroye (1987) montre également que cette technique cryoscopique n'est pas satisfaisante pour des fromages dont les niveaux de protéolyse sont très voisins. Sur 180 Emmentals affinés de

Fig 6. Relation entre l'indice d'affinage et la teneur en sel dans l'humidité des Gruyères.

Relationship between the ripening index and the salt in moisture content of Gruyère-type cheeses.

façon identique et provenant d'une même fromagerie, il obtient une corrélation faible mais significative entre la teneur en NaCl et l'indice d'affinage des fromages. Nos résultats montrent que l'indice d'affinage ne peut être utilisé par les industriels pour déterminer rapidement le degré de protéolyse des fromages à pâte cuite pressée qu'à condition d'appliquer des corrections en fonction de la teneur en NaCl de l'échantillon analysé.

Texture

Les valeurs moyennes obtenues pour les tests rhéologiques sont présentées dans le tableau II. L'élasticité des fromages mesurée par le module de Young et la fermeté évaluée par la contrainte à la rupture sont les paramètres les plus variables.

Les calculs de corrélations simples montrent une liaison très hautement significative ($P < 0,001$) positive entre la contrainte et la déformation à la rupture ($R = +0,867$) et négative entre le module de Young et la déformation à la rupture ($R = -0,843$).

Les mesures rhéologiques sont elles aussi fortement influencées par l' A_w des fromages. La force d'extrusion, qui permet d'apprécier d'une certaine manière, la fermeté du fromage, augmente en moyenne quand l' A_w diminue ($R = -0,612$, $P < 0,01$). Cette augmentation est surtout sensible à partir d'une A_w de 0,970 soit 2,50% de NaCl dans l'humidité.

On observe également de très bonnes corrélations entre les paramètres mesurés lors des tests de compression et l' A_w des minifromages. Les meilleures corrélations sont obtenues avec la déformation à la rupture, qui représente la cohésion de la pâte des fromages ($R = +0,922$, $P < 0,001$) (fig 7) et la contrainte à la rupture ($R = +0,823$, $P < 0,001$) (fig 8). En saumurant des cylindres prélevés dans des Camemberts non affinés, Mpagana et Hardy (1986) observent aussi une augmentation de la fermeté (force au point de rupture) et de la friabilité du fromage (déformation au point de rupture) avec l'augmentation de sa teneur en sel. Ils expliquent ces modifications rhéologiques par une diminution de l'hydratation des caséines et une légère augmentation de la viscosité de la phase aqueuse du fromage lorsque sa teneur en sel croît. D'autre part, les fromages pré-

Fig 7. Relation entre la déformation à la rupture (cohésion) et l'activité de l'eau des fromages.

Relationship between the fracture strain (cohesiveness) and water activity in Gruyère-type cheeses.

Tableau II. Paramètres rhéologiques (moyenne et écart type) des fromages de 6 semaines.
Rheological parameters (mean and standard deviation) of 6-wk-old cheese.

VARIABLES <i>variables</i>	MOYENNE ET ERREUR-TYPE <i>mean and standard error</i>	MINIMUM- MAXIMUM <i>min-max</i>	ECART- TYPE <i>*SD</i>	COEFFICIENT DE VARIATION (p.100) <i>(SD/mean)x100</i>
force d'extrusion (1) <i>extrusion force</i>	4,85 ± 0,14	3,80- 6,00	0,54	11,1
module de Young (2) <i>modulus of Young</i>	316 ± 28	174- 518	106	33,6
contrainte à la rupture (2) <i>fracture stress</i>	697 ± 61	457-1149	227	32,6
déformation à la rupture (3) <i>fracture strain</i>	69,6 ± 2,2	55,1- 80,1	8,2	11,8
travail à la rupture (4) <i>fracture force</i>	0,665 ± 0,031	0,509-0,870	0,115	17,2

(1) kgF. (2) kPa. (3) p 100 (*percent*). (4) Joules. *SD : écart type (*standard deviation*).

sentant une A_w élevée sont aussi les fromages possédant le plus faible ES et de nombreux auteurs soulignent l'effet ramollissant de l'eau sur la texture des fromages

Fig 8. Relation entre la contrainte à la rupture (fermeté) et l'activité de l'eau des fromages.
Relationship between the fracture stress (firmness) and water activity in Gruyère-type cheeses.

(Mocquot, 1979; Ruegg *et al*, 1980; Eberhard, 1985).

Nous notons aussi une corrélation importante ($R = + 0,967$, $P < 0,001$) entre la proportion de fraction $\alpha s1-I$ dans la caséine totale et la déformation à la rupture. Cette relation résulte probablement de l'influence de l' A_w sur la dégradation de la caséine $\alpha s1$, déjà décrite dans les résultats. Pour des fromages à pâte molle, De Jong (1977) a montré que le ramollissement de leur pâte dépend directement de la dégradation de la caséine $\alpha s1$ et augmente avec elle. De même, Creamer et Olson (1982) notent une bonne corrélation entre la quantité de caséine $\alpha s1$ intacte dans le Cheddar et la contrainte à la rupture des fromages. Dans nos petits fromages, la force d'extrusion est également inverse-

ment liée à la proportion de fraction α s1-I dans la caséine totale ($R = -0,715$, $P < 0,01$). Elle diminue aussi quand le rapport NS/NT augmente ($R = -0,637$, $P < 0,01$). Nous n'avons pas observé de relation entre les paramètres rhéologiques de la pâte et les autres fractions azotées mesurées (NPT/NT et fractions γ).

Évolution des descripteurs de protéolyse en fonction de l'*Aw*

L'analyse en composantes principales (fig 9) sur les principaux paramètres mesurant l'intensité de la protéolyse des petits fromages à 6 semaines nous permet de suivre l'évolution des meilleurs descripteurs de cette protéolyse en fonction de l'*Aw* des fromages. Les 7 individus projetés sur le 1^{er} plan principal (qui regroupe presque 83% de l'inertie) sont les 7 individus moyens correspondant aux 7 couples de petits fromages analysés. Leur numérotation dans le plan est fonction de leur te-

Fig 9. Analyse en composantes principales des fractions azotées. Évolution des descripteurs de la protéolyse en fonction de l'activité de l'eau des fromages.

Principal component analysis of nitrogen fractions. Evolution of the proteolysis descriptors according to water activity of the cheeses.

Variables actives (active variables) :

- α s1-I : fraction α s1-I (α s1-I fraction).
- γ : fractions γ (γ fractions).
- pH : pH (pH).
- NS/NT : NS/NT (WSN/TN).
- NPT/NT : NPT/NT (PTASN/TN).

neur en NaCl, du moins salé au plus salé. On y voit très clairement que les fromages peu salés (1 et 2) sont caractérisés par les plus grandes teneurs en fraction α s1-I, une *Aw* élevée et une bonne cohésion de pâte. Puis lorsque la teneur en NaCl augmente, le pH passe par un maximum (3) puis c'est au tour du rapport NS/NT, des fractions γ et enfin du rapport NPT/NT (4, 5, 6). Pour les fromages très salés (7), le niveau de protéolyse global est faible et pas différencié. De cette manière, on met facilement en évidence qu'en fonction de la teneur en sel, ou plus précisément de l'*Aw*, ce ne sont pas les mêmes systèmes enzymatiques qui sont responsables de l'intensité de protéolyse.

CONCLUSION

Cette étude a permis de montrer que modifier la teneur en sel d'un fromage est un moyen efficace pour jouer sur l'activité de l'eau. En particulier, fabriquer des petits fromages à partir d'un Gruyère de taille réelle, les saumer puis les affiner sous film plastique permet d'avoir des fromages homogènes, représentatifs d'une pâte pressée cuite. L'extrait sec de ces fromages évolue peu en 6 semaines d'affinage et lorsque le temps de saumurage varie de 0 à 24 h, l'activité de l'eau semble directement fonction de la teneur en NaCl dans l'humidité des fromages (0–4%).

Ainsi, nous avons mis en évidence que dans les conditions de milieu d'un fromage type Gruyère, la nature et l'intensité de la protéolyse ainsi que la texture dépendent de l'activité de l'eau en liaison avec la teneur en sel. Celle-ci modifie fortement la protéolyse primaire des caséines mais n'a que peu d'incidence sur la protéolyse secondaire. Nous montrons clairement que l'activité du système plasmine, mesurée par la quantité de fractions γ produite dé-

pend étroitement de l'activité de l'eau du fromage. Elle est maximale pour une valeur d'activité de l'eau correspondant à environ 2% de NaCl dans l'humidité du fromage. La dégradation de la caséine α s1 diminue constamment avec la baisse d'activité de l'eau induite par l'augmentation de sel. Les fromages moins salés, à activité de l'eau élevée, à forte dégradation de la caséine α s1 sont moins fermes et ont une cohésion plus faible.

REMERCIEMENTS

Ce programme a reçu une aide financière de la région franche-comté (Contrat 3202A). Nous remercions également J Millet de l'École nationale d'industrie laitière à Poligny (39800) qui a supervisé la fabrication du Gruyère ayant servi de matière première à l'étude, ainsi que G Duboz et RM Gomez pour leur contribution technique à l'étude.

RÉFÉRENCES

- Adda J, Gripon JC, Vassal L (1982) The chemistry of flavour and texture generation in cheese. *Food Chem* 9, 115-129
- Berdagué JL, Grappin R (1987) Affinage et qualité du gruyère de Comté. II. Influence de l'affinage sur l'évolution des caractéristiques physico-chimiques des fromages. *Lait* 67, 237-247
- Buchet C (1987) Essai de quantification des caséines de fromage à pâte pressée cuite séparées par électrophorèse sur gel PAGE. Etude ITG
- Chamba JF (1988) Salage de l'Emmental. I. Influence des conditions de saumurage sur l'absorption du sel et sa cinétique. *Lait* 68, 121-142
- Collin JC, Berdagué JL, Dognin-Bergeret M, Grappin R (1987) Affinage et qualité du gruyère de Comté. IV. Étude de la protéolyse. *Lait* 67, 299-318
- Courroye M (1987) L'indice d'affinage : un nouveau moyen de suivre la protéolyse des fromages à pâte pressée cuite par cryoscopie. *Ind Alim Agric* 104, 169-173
- Creamer LK, Olson NF (1982) Rheological evaluation of maturing Cheddar cheese. *J Food Sci* 47, 631-636, 646
- De Jong L (1977) Protein breakdown in soft cheese and its relation to consistency. 2. The influence of rennet concentration. *Neth Milk Dairy J* 31, 314-327
- Eberhard P (1985) Rheologische Eigenschaften ausgewählter Käsesorten. Thesis, Zürich
- El Soda M, Desmazeaud MJ (1982) Les peptides hydrolases des lactobacilles des groupes *thermobacterium*. I. Mise en évidence de ces activités chez *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus bulgaricus*. *Can J Microbiol* 28, 1181-1188
- Fils-Lycaon B, Buret M, Drouet A, Hartmann C, Duprat F (1988) Ripening and overripening of cherry fruit: use of principal component analysis to check fruit picking and sampling method pertinence and select the most discriminant analysis criteria. *Sci Alim* 8, 383-396
- Fox PF, Walley BF (1971) Influence of sodium chloride on proteolysis of casein by rennet and by pepsin. *J Dairy Res* 38, 165-170
- Garnot P, Mollé D (1987) Heat-stability of milk-clotting enzymes in conditions encountered in Swiss cheese making. *J Food Sci* 52, 75-77, 87
- Godinho M, Fox PF (1982) Ripening of Blue cheese. Influence of salting rate on proteolysis. *Milchwissenschaft* 37, 72-75
- Gripon JC, Desmazeaud MJ, Le Bars D, Bergère JL (1975) Étude du rôle des microorganismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. II. Influence de la présure commerciale. *Lait* 55, 502-516
- Hardy J (1979) L'activité de l'eau, le sel et les moisissures des fromages. *Rev Lait Fr* 377, 19-25
- Heiss E (1961) Essai de dosage de la matière grasse dans le fromage. *Dtsch Molk Ztg* 82, 67-70
- Kaminogawa S, Yamauchi K, Miyazama S, Koga Y (1980) Degradation of casein compo-

- nents by acid protease of bovine milk. *J Dairy Sci* 63, 701-704
- Kuchroo CN, Fox PF (1982) Soluble nitrogen in Cheddar cheese. *Milchwissenschaft* 37, 331-335
- Landrock AH, Proctor BE (1951) A new graphical interpolation method for obtaining humidity equilibrium data, with special reference to its role in food packaging studies. *Food Technol* 5, 332-337
- Lawrence RC, Creamer LK, Gilles J (1987) Texture development during cheese ripening. *J Dairy Sci* 70, 1748-1759
- Marcos A, Alcalá M, León F, Fernández-Salguero J, Esteban MA (1981) Water activity and chemical composition of cheese. *J Dairy Sci* 64, 622-626
- Matheson AR (1981) The immunochemical determination of chymosin activity in cheese. *N Z J Dairy Sci Technol* 15, 33-41
- Mathlouthi M, Conry M, Jaillant G, Maitenaz PC (1980) Water vapor sorption of Gruyere cheese. *Lebensm Wiss Technol* 13, 264-268
- MICROSTAT ITCF (1984) Service des études statistiques et informatiques. Station expérimentale ITCF, Boignevelles, 91700 Maisse
- Mocquot G (1979) Review of the progress of dairy science: Swiss-type cheese. *J Dairy Sci* 46, 133-160
- Mpagana M, Hardy J (1986) Effect of salting on rheological properties of fresh Camembert cheese as measured by uniaxial compression. *Milchwissenschaft* 41, 210-213
- Noomen A (1978a) Activity of proteolytic enzymes in simulated soft cheese (Meshanger type). 1. Activity of milk protease. *Neth Milk Dairy J* 32, 26-48
- Noomen A (1978b) Activity of proteolytic enzymes in simulated soft cheese (Meshanger type). 2. Activity of calf rennet. *Neth Milk Dairy J* 32, 49-68
- Pearce KN (1977) The complexometric determination of calcium in dairy products. *N Z J Dairy Sci Technol* 12, 113-115
- Phelan JA, Guiney J, Fox PF (1973) Proteolysis of casein in Cheddar cheese. *J Dairy Res* 40, 105-112
- Rüegg M, Blanc B (1977) Beziehungen zwischen Wasser-Sorptionsvermögen, Wasseraktivität und Zusammensetzung von Käse. *Milchwissenschaft* 32, 193-200
- Rüegg M, Eberhard P, Moor U, Flückiger E, Blanc B (1980) Beziehungen zwischen Teigbeschaffenheit und Zusammensetzung von Käse. *Schweiz Milchw Forsch* 9, 3-8
- Sanogo T, Paquet D, Linden G (1987) Protéolyse de la caséine en milieu salin : étude de quatre protéases. *Sci Alim* 7, 385-398
- Searles MA, Argyle PJ, Chandan RC, Gordon JF (1970) Lipolytic and proteolytic activities of lactic cultures. XVIIIth Int Dairy Congr 1E, 111
- Thomas TD, Pearce KN (1981) Influence of salt on lactose fermentation and proteolysis in Cheddar cheese. *N Z J Dairy Sci Technol* 16, 253-260
- Zevaco C, Gripon JC (1988) Properties and specificity of a cell-wall proteinase from *Lactobacillus helveticus*. *Lait* 68, 393-408