

Effet de la conservation

Une conservation prolongée des fromages se traduit souvent par une diminution notable du taux de riboflavine.

RANDOIN et CAUSERET [87] trouvent, après cinq mois de conservation, une perte de 73 p. 100 et DAVIDOV et coll. [25] constatent dans des fromages du type Hollande, des pertes allant de 42 à 58 p. 100.

(A suivre.)

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ACTION DE LA CHALEUR SUR LES CASÉINES (1)

par

M^{me} M. SWIRSKI, R. ALLOUF et H. CHEFTEL

Laboratoire de Recherches des Etablissements J.-J. Carnaud
et Forges de Basse-Indre

INTRODUCTION

Il a été observé depuis longtemps que le chauffage modifie les propriétés des protéines. Ces modifications, qui portent notamment sur la solubilité, sur la réactivité des groupements fonctionnels, sur la forme et la taille de la molécule, ont été groupées sous le terme général de dénaturation [45]; celle-ci consisterait essentiellement d'après LINDERSTRÖM-LANG [26] en un dépliage et réarrangement des chaînes peptidiques ayant pour effet de rendre certaines liaisons et certains groupements plus accessibles à l'action des enzymes protéolytiques.

Étant donné que la plupart des aliments protéiques sont généralement consommés après cuisson, les effets du chauffage sur les protéines ont une grande importance du point de vue de la nutrition. C'est pourquoi de nombreuses études ont porté sur l'influence du chauffage sur la valeur biologique *in vivo* et sur la digestibilité, *in vitro* d'aliments protéiques ou de protéines.

Les modifications dues au chauffage vont tantôt dans le sens

(1) Ce travail a fait l'objet d'une thèse soutenue devant l'Université de Strasbourg, par Mme Swirski. (*Bull. Soc. Ch. Bio.*, 1961, 43, n° 7-8, 909.)

d'une augmentation de la valeur biologique *in vivo* et de la digestibilité *in vitro*, tantôt dans le sens opposé. Il faut souligner que les résultats accusent des différences considérables selon les conditions dans lesquelles ils ont été obtenus.

Parmi les protéines les plus étudiées à ce propos, la caséine du lait de vache occupe l'une des premières places ; cela tient à son importance alimentaire et sans doute aussi à la facilité relative avec laquelle on peut l'obtenir à l'état purifié.

Dès 1908, VON DAM [7,8] constatait que le chauffage du lait empêchait la coagulation ultérieure de la caséine par la présure ; fait confirmé notamment par PALMER [37] et par PORCHER [42]. PAPPALARDO [38] et HOWAT et WRIGHT [19] [20] montraient que le chauffage avait pour effet de libérer une proportion importante de l'acide phosphorique lié à la caséine.

McCOLLUM et DAVIS [27], MARLETTA [31], MORGAN et PETRO [35], SCHULTZ et SEEGER [46] ont signalé que le chauffage, dans diverses conditions, fait perdre à la caséine une partie de sa valeur biologique *in vivo* ; et GREAVES et coll. [17] [18] ont montré que l'addition de lysine permet de rétablir la valeur biologique initiale. Pourtant l'hydrolyse acide permet de retrouver autant de lysine dans la caséine chauffée (à l'état sec) que dans la caséine non chauffée (BLOCK et coll. [4]). Ces A. en déduisent que le chauffage bloque la libération de la lysine par les enzymes protéolytiques, ce que notamment, des expériences de ELDRED et RODNEY [10] et de YENSON [49] ont confirmé.

On sait d'ailleurs, depuis les études de MELNICK, OSER et WEISS [33], de MELNICK, OSER et PADER [36], de GEIGER [14] [15] et d'ELVEHJEM [11] [12], que la valeur biologique d'une protéine dépend pour une bonne part de la cadence de libération des divers acides aminés, qui doivent être tous disponibles dans les proportions voulues à un moment déterminé.

BUT DE NOTRE TRAVAIL

Les recherches que nous venons de rappeler ont porté sur la caséine totale, chauffée le plus souvent à l'état sec ; c'est pourquoi il nous a paru intéressant d'examiner le comportement au chauffage de la caséine en solution, et des deux principales fractions de celle-ci, l' α -caséine et la β -caséine, obtenues par MELLANDER [32], que nous avons préparées, à partir de caséine exempte de vitamines A et D de Hoffman La Roche et de caséine Merck selon HAMMERSTEN, d'après la méthode de WARNER [47].

Nos expériences ont consisté à préparer des solutions à environ

0,5 p. 100 et à environ 2,0 p. 100 de caséine totale et d' α -caséine et à 0,5 p. 100 de β -caséine, dans du tampon phosphate M/15 de Sørensen (pH 7,19) ; et, pour l'étude de la libération du phosphore, dans du tampon borate M/12 de Palitsch (pH 7,36).

Ces solutions ont été chauffées 40 minutes à 120° C, l'expérience ayant montré qu'un chauffage de plus longue durée et à une température plus élevée (60 minutes à 135° C) n'entraînait pas de modifications ultérieures, ni de la vitesse de libération de l'azote aminé, ni des caractères de solubilité ; elles ont été ensuite comparées à des solutions témoins non chauffées.

Nous avons étudié l'effet du chauffage d'une part sur certaines *propriétés physiques et chimiques* : couleur, pouvoir réducteur et présence de sucres réducteurs, absorption dans l'ultra-violet, solubilité entre pH 7 et pH 4, constante de sédimentation, teneur en phosphore dialysable, composition en acides aminés ; d'autre part sur la *vitesse d'hydrolyse par la trypsine et par la pepsine*. L'hydrolyse enzymatique a été suivie, dans le cas de la trypsine, par le dosage de l'azote aminé et des composés azotés dialysables libérés, par la recherche, le fractionnement et le dosage par électrophorèse et chromatographie sur papier des acides aminés libres ou engagés dans des peptides, et par le dosage du phosphore libéré sous forme dialysable ; dans le cas de la pepsine, par le dosage de l'azote aminé et des composés azotés dialysables libérés.

MÉTHODES EXPÉRIMENTALES

1. Couleur

Les modifications de couleur (brunissement) ont été uniquement évaluées à l'œil.

2. Pouvoir réducteur

Hydrolyse acide de la solution de caséine (5 ml H_2SO_4N pour 1 ml sol. caséine à 2 p. 100) à l'ébullition à reflux pendant 1 heure. Neutralisation par la baryte et centrifugation. Dialyse pendant 48 heures à 2° C contre eau bi-distillée. Évaporation à sec sous pression réduite. Reprise par l'eau bi-distillée et dosage selon POTTERAT [44].

3. Recherche des sucres par chromatographie

Résidu sec repris par la pyridine, pour éliminer les sels minéraux (MALPRESS [30]). Evaporation à sec sous pression réduite et reprise par l'eau bi-distillée. Chromatographie à écoulement continu sur papier selon JERMYN et ISHERWOOD [22].

4. Absorption dans l'ultra-violet

Les courbes d'absorption ont été établies au spectrophotomètre Beckmann DU, entre 220 et 300 μ .

5. Solubilité entre pH 7 et pH 4

La solubilité a été suivie par des mesures néphélométriques au moyen du dispositif s'adaptant au photomètre Coleman Mod. 11 A, sur des prises d'essai de solution de caséine additionnée d'HCl 0,1 N goutte à goutte en agitant, de façon à faire varier progressivement le pH du milieu.

6. Constante de sédimentation

La constante de sédimentation a été étudiée par ultracentrifugation des solutions de caséine à environ 2 p. 100 en tampon phosphate pH 7,19 (1). L'ultracentrifugeuse Spinco avait une vitesse de 59 780 t/mn et une accélération moyenne de 245 000 fois celle de la pesanteur, la température de la cellule de 12 mm variait à la fin des expériences entre 21,5°C et 23,2°C.

7. Teneur en phosphore dialysable

Dialyse pendant 48 heures à 2°C des solutions contre du tampon borate, dosage selon ZINZADZE [50] du phosphore non dialysable sur une partie aliquote du contenu des sacs à dialyse et évaluation par différence du phosphore dialysable.

8. Dosage de l'azote total

Dosage selon KJELDAHL [24], dans l'appareil de PARNAS et WAGNER [39], catalyseur oxyde mercurique — sulfate sélénieux selon KIRK [23].

(1) Nous tenons à remercier M. Pelmont, du Service de M. le Pr Lépine, de l'Institut Pasteur, qui a bien voulu réaliser l'ultracentrifugation.

9. Dosage de l'azote aminé

Dosage par titration au formol, à pH 9,6 (MELNICK et OSER [34]).

10. Dosage des acides aminés

La séparation et le dosage des acides aminés ont été effectués par électrophorèse sur papier selon BISERTE et coll. [3], mais en utilisant comme étalons des spots témoins obtenus à partir d'acides aminés soumis chaque fois à toutes les opérations de fractionnement et de séparation. Ont été dosés ainsi, après précipitation par l'acide perchlorique : 1° les acides aminés libres ; 2° les acides aminés engagés dans les peptides non précipitables, ces derniers étant soumis préalablement à l'hydrolyse acide (4 ml HCl 6 N pour 0,5 ml de solution) à 120° C pendant 18 heures.

11. Hydrolyse trypsique

L'hydrolyse trypsique a été conduite à 37° C, en tubes scellés, sur 15 ml de solution protéique en tampon phosphate (ou borate), avec de la trypsine Merck à la dose de 60 mg par gramme de caséine, et en présence de dihydrostreptomycine à la dose de 0,2 mg par ml [2].

Après hydrolyse trypsique, dialyse pendant 48 heures à 2° C contre eau bi-distillée, l'identification des acides aminés a été effectuée par chromatographie sur papier (PARTRIDGE [40], FOWDEN [13] et WOJWOD et LINGGOOD [48], dosage par électrophorèse sur papier selon BISERTE et coll. comme indiqué plus haut.

12. Hydrolyse pepsique

L'hydrolyse pepsique a été réalisée comme l'hydrolyse trypsique, mais à pH 2,9 ; pepsine UCLAF, à la dose de 80 mg par gramme de caséine.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

I. — Influence du chauffage sur les propriétés chimiques et physiques

Le tableau ci-après résume nos observations :

TABLEAU I
EFFETS DU CHAUFFAGE DES CASÉINES EN SOLUTION

	Caséine totale	α -caséine	β -caséine
1. Modification de la couleur (brunissement)	+	+	—
2. Modification de l'absorption dans l'ultra-violet	+	—	+
3. Modification de la constante de sédimentation		+	—
4. Modification de la solubilité entre p ^H 7 et p ^H 4	+	+	—
5. Modification de la teneur en phosphore	+	+	—
6. Modification de la teneur en acides aminés	—		

Ainsi qu'on le voit, le chauffage (40 minutes à 120° C) des solutions de caséine totale ne modifie pas la composition en acides aminés ; quant aux modifications que nous avons observées, elles paraissent devoir être attribuées au comportement de l' α -caséine, sauf en ce qui concerne l'absorption dans l'ultra-violet (fig. 1 et 2) dont paraît responsable la β -caséine.

Le brunissement de l' α -caséine lors du chauffage se produit même lorsque celle-ci a été préalablement soumise à une dialyse ; s'il est dû à une réaction avec des sucres, on peut supposer que ceux-ci sont liés à la caséine. Une hydrolyse ménagée fait effectivement apparaître un faible pouvoir réducteur, dont la valeur est la même, que la caséine ait été chauffée ou non. La chromatographie sur papier semble indiquer la présence de galactose et de mannose. Différents auteurs [1] [21] [29] ont d'ailleurs signalé l'existence dans la caséine de très faibles quantités de sucres réducteurs combinés à celle-ci.

Par ailleurs, le chauffage de l' α -caséine entraîne une variation sensible de sa vitesse de sédimentation : 7,5 à 8,8 ; au contraire il ne modifie pas celle de la β -caséine qui conserve sa valeur de 25. Ces valeurs peuvent être rapprochées de celles trouvées en 1936 par PEDERSEN [41] pour la caséine totale : 12 pour les solutions à 0,9 p. 100 de protéines et 23 pour les solutions à 2,6 p. 100 ; comme cet auteur, nous avons retrouvé l'influence de la concentration qui cependant est beaucoup plus marquée dans le cas de la β -caséine.

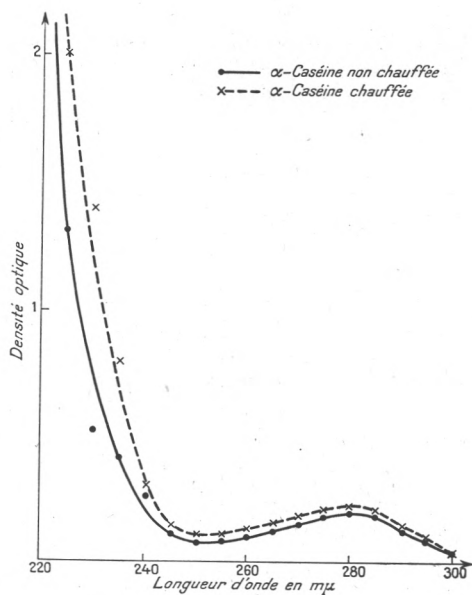


Figure 1. — Spectre d'absorption en lumière U.V. de l' α -caséine

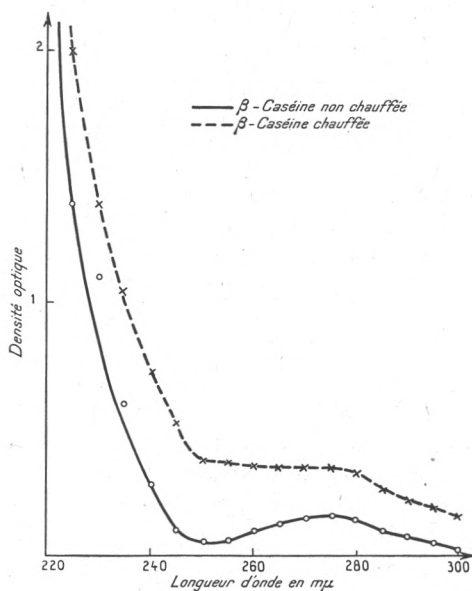


Figure 2. — Spectre d'absorption en lumière U.V. de la β -caséine

L'influence du chauffage sur la solubilité, quand elle se manifeste, a pour effet de permettre la redissolution de la protéine lors de l'acidification du milieu (fig. 3).

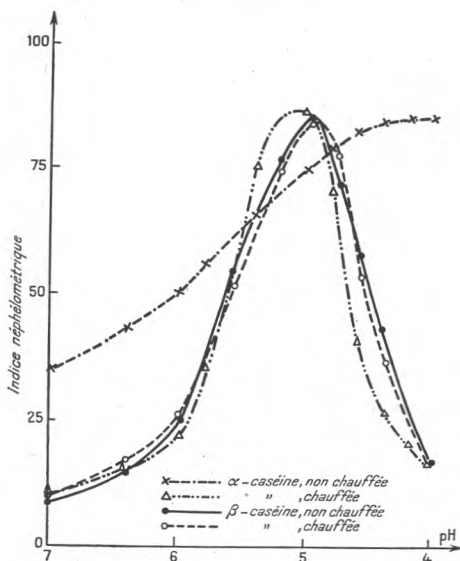


Figure 3. — Solubilité de l'α- et de la β-caséine en fonction du pH

Quant à l'influence du chauffage sur la teneur en phosphore, elle se traduit par une mise en liberté plus ou moins importante de phosphore sous forme dialysable et minérale (cf. Tableau II).

(A suivre.)

LE GONFLEMENT BUTYRIQUE DU FROMAGE « CASHCAVAL DE DOBROUDJA »

par

Dr C. STOIAN

et

Dr. C. UNGUREANU

Direction Générale
de l'Industrie du Lait

Institut de Pathologie
et d'Hygiène Animale

Bucarest

Le gonflement butyrique des fromages occasionne de grosses pertes pour l'industrie laitière. D'autant que cette maladie paraît après une période de maturation plus longue et que la production journalière de fromages est plus importante, les pertes sont plus sévères.