

Étude de la variété de fromage « Ulloa »

III. ACIDES AMINES LIBERES PENDANT LA MATURATION

par

J. A. ORDÓÑEZ et J. BURGOS

*Chaire de Biochimie et de Technologie des Aliments
Faculté Vétérinaire de León (Espagne)*

INTRODUCTION

La protéolyse est peut-être le phénomène le plus important dans le processus de maturation des fromages. La rupture de la molécule protéique, due à l'action des protéases et des peptidases, peut atteindre des profondeurs très diverses. Cette dégradation peut donner lieu à l'apparition de polypeptides de différentes grandeurs, des peptides, des acides aminés libres, des amines, etc.

La présure et les micro-organismes fournissent les enzymes nécessaires à la dégradation protéique. Les germes possèdent des protéases « vraies », carboxypeptidases, aminopeptidases, phosphatases, di et tripeptidases spécifiques et non spécifiques, dont les actions conjuguées, et fréquemment alternantes, déterminent finalement la libération progressive d'acides aminés. Le contenu et l'évolution de ces substances pendant le processus de maturation, étant donné leur saveur spécifique, ont reçu une attention spéciale dans divers types de fromages : par exemple, le fromage suisse [5], Edam [1], Cabrales [11], Provolone [4], etc.

L'évolution microbiologique [9] et la préparation d'un levain pour l'élaboration des fromages de type « Ulloa » à partir du lait pasteurisé [2] ont été étudiées dans des travaux précédents. Le présent travail résume les expériences réalisées afin de connaître les acides aminés libérés au cours de la maturation.

MATERIELS ET METHODES

L'extraction, la purification et la séparation chromatographique des acides aminés libres ont été effectuées, en essence, d'après la méthode de Moore et *al.* [8], modifiée par Sala et Burgos [10].

L'identification des acides aminés a été réalisée au moyen de la représentation graphique de l'absorption de chaque acide aminé à 570 m μ (ou à 440 pour la proline) en fonction du volume d'élution, en comparant l'acido-aminegramme obtenu avec celui d'un échantillon type. La quantification a eu lieu en se basant sur l'aire correspondante à chaque acide aminé, qui a été référée à celle du même acide aminé type. L'acido-aminegramme type a été obtenu avec des échantillons contenant 0,70 μ -mols de chaque acide aminé.

La détermination de l'azote total et de l'azote peptidique des extraits finals des acides aminés a été effectuée d'après la méthode de Johnson [14] et par la réaction du biuret [3], respectivement.

RESULTATS ET DISCUSSION

Pour réaliser le présent travail, un lot de fromages a été élaboré à partir de lait pasteurisé en employant le levain établi pour cette variété de fromages [2]. Un autre lot a été fabriqué avec le même lait, non pasteurisé, en ajoutant la même présure à des proportions identiques.

Un échantillon du caillé de la fabrication avec du lait pasteurisé a été prélevé juste après la séparation du petit-lait. La matière sèche a été déterminée dans le même caillé et les acides aminés libres ont été extraits. Les deux lots de fromages ont été mis dans la même cave pour la maturation et, à la fin de ce processus, ils ont été soumis aux mêmes analyses que le caillé.

Le tableau 1 présente les valeurs atteintes par l'azote total, l'azote peptidique et les substances positives au réactif de ninhydrine, obtenues à partir des extraits solubles en éthanol à 92 p.100. Le tableau 2 montre les taux atteints par chaque acide aminé dans le caillé et dans les deux lots de fromages.

La similitude entre les fromages fabriqués avec du lait cru et du lait pasteurisé est confirmée par les résultats exposés dans le tableau 1, dans lequel on peut apprécier les valeurs semblables de l'azote total soluble en éthanol à 92 p.100. Néanmoins la protéolyse a été plus profonde dans les fromages fabriqués avec du lait pasteurisé. Le taux total d'acides aminés dans ce lot de fromages est plus élevé, tandis que les chiffres d'azote peptidique soluble en éthanol

TABLEAU 1

Azote total, azote peptidique et substances positives au réactif de ninhydrine des extraits solubles en éthanol à 92 p.100 (mg/100 g de matière sèche)

	Azote total	Azote peptidique	Substances ninhydrine + (1)	Acides aminés libres
Caillé	30,20	0,31	17,63	71,48
Fromage de lait cru	76,99	35,04	28,90	86,84
Fromage de lait pasteurisé	82,08	23,68	33,17	126,67

(1) Le calcul a été effectué en employant le coefficient d'extinction molaire de la glycine (9).

TABLEAU 2

Acides aminés libres du caillé et des fromages fabriqués à partir de lait cru et pasteurisé (mg/100 g de matière sèche)

	Caillé	Fromage de lait cru	Fromage de lait pasteurisé
Aspartique	2,27	—	—
Thréonine	4,90	2,50 (1)	6,32
Sérine	3,53	—	5,36
Glutamique	4,37	5,64	12,38
Proline	—	—	5,13
Glycine	0,15	0,57	0,70
Alanine	2,67	1,08	3,55
Cystine	—	0,78	traces
Valine	6,98	4,95	8,01
Méthionine	3,11	4,41	5,40
Isoleucine	3,24	7,21	12,20
Leucine	16,57	22,45	12,67
Tyrosine	1,34	1,55	1,55
Phénylalanine	6,25	14,96	9,30
Lysine	8,53	9,18	12,84
Histidine	—	—	12,77
Arginine	4,06	2,74	10,17
Ammoniaque	3,51	8,82	8,32
Total	71,48	86,84	126,67

(1) Thréonine + Sérine.

à 92 p. 100 sont plus grands dans les fromages élaborés avec du lait cru. La relation dans les deux lots de fromages entre l'azote peptidique et le taux d'acides aminés libres est inverse.

A partir de l'étude du tableau 2 on peut aussi observer que la protéolyse a été plus grande dans le fromage fabriqué avec du lait pasteurisé. Le taux des acides aminés a atteint des valeurs supérieures dans ces fromages, sauf dans le cas de la leucine et de la phénylalanine où le taux a été plus élevé dans le fromage élaboré avec du lait cru. Cette circonstance peut être due à l'exclusion de *Streptococcus faecium*, des microcoques et des staphylocoques dans le levain préparé pour la fabrication à partir de lait pasteurisé [2].

Les valeurs les plus grandes des acides aminés, thréonine, sérine, acide glutamique, proline, valine, isoleucine, lysine, histidine et arginine dans le fromage fabriqué avec du lait pasteurisé sont probablement une conséquence de la prolifération de *Streptococcus faecalis*, var. *liquefaciens*. Dans ce sens, il convient de remarquer que *S. faecalis*, var. *liquefaciens*, est le germe qui, parmi les entérocoques, a une plus grande capacité protéolytique et c'est le seul qui possède une exoprotéase [12]. Dans les fromages élaborés avec du lait cru ce micro-organisme existe aussi [9] mais leur activité protéolytique sur la caséine peut être inférieure comme une conséquence des phénomènes d'antagonisme qui pourraient exister avec *S. faecium* et/ou avec les staphylocoques et microcoques qui ont été exclus pour préparer le levain [2].

D'autre part, il est intéressant de remarquer l'absence d'acide aspartique dans les deux lots de fromages, malgré sa présence initiale dans le caillé. Cela peut être expliqué en tenant compte du grand quotient de transamination de cet acide aminé, dans les fromages, avec l'acide cétoglutarique [13].

Dans les deux fromages la leucine et l'isoleucine sont parmi les acides aminés les plus abondants. Ces résultats s'accordent avec ceux d'autres auteurs pour différentes variétés de fromages [1, 4, 6, 11]. Ces acides aminés sont ceux que *S. faecalis*, var. *liquefaciens*, libère dans une plus grande proportion à partir du lait [7], et ils ne souffrent pas de transamination avec l'acide cétoglutarique [13].

L'histidine, absente dans le caillé, atteint la valeur la plus grande (à la fois pour les leucines, la lysine et l'acide glutamique) dans les fromages élaborés avec du lait pasteurisé. Il n'a pas été possible d'expliquer l'absence de cet acide aminé dans les fromages fabriqués à partir de lait cru puisque l'on a démontré que *S. lactis*, *S. cremoris* et *S. faecalis*, var. *liquefaciens*, produisent de l'histidine à partir des protéines du lait [7]. Ces micro-organismes et *L. plantarum* constituent la flore dominante dans le fromage type « Ulloa » [9].

Résumé

La libération des acides aminés au cours de la maturation du fromage espagnol « Ulloa » a été étudiée sur deux lots de fromages. Un lot a été fabriqué avec du lait cru et l'autre avec le levain établi par ce type de fromage et à partir du lait pasteurisé.

L'azote soluble en éthanol à 92 p.100 a été similaire dans les deux lots, mais la protéolyse a été plus grande dans les fromages élaborés avec du lait pasteurisé. Le taux des acides aminés a atteint des valeurs supérieures dans ces fromages, sauf dans le cas de la leucine et de la phénylalanine.

Summary

Free aminoacids involved during the ripening of the « Ulloa » cheese have been studied both, in batches made from raw and pasteurized milk plus the starter suggested in a previous paper.

With the exception of leucine and phenylalanine, all aminoacids reached a higher levels in the samples manufactured from pasteurized milk.

Soluble nitrogen in 92 p.100 ethanol was similar in the two batches but a larger proteolysis was achieved in cheeses made from pasteurized milk.

Reçu pour publication en février 1977.

Références bibliographiques

- [1] ALI (L. A. M.) (1960). — Mededel Landbonwhogeschool. *Wageningen.*, 60, 1.
- [2] BURGOS (J.) et ORDONEZ (J. A.) (1977). — *Le Lait*, n° 563-564, 150.
- [3] CHANCE (B.) et REDFEARN (E. R.) (1961). — *Biochem. J.*, 80, 632.
- [4] HARPER (W. J.) et LONG (J. E.) (1956). — *J. Dairy Sci.*, 39, 129.
- [5] HINTZ (P. C.), SLATER (W. C.) et HARPER (W. J.) (1956). — *J. Dairy Sci.*, 39, 235.
- [6] LONG (J. E.) et HARPER (W. J.) (1956). — *J. Dairy Sci.*, 39, 138.
- [7] LUSIANI (G.), BIANCHI (B. B.) et SALVADORI (P.) (1971). — *Le Lait*, n° 507, 431.
- [8] MOORE (S.), SPACKMAN (D. H.) et STEIN (W. H.) (1958). — *Anal. Chem.*, 30, 1185.
- [9] ORDONEZ (J. A.) et BURGOS (J.) (1977). — *Le Lait*, n° 565-566, 278.
- [10] SALA (F. J.) et BURGOS (J.) (1972). — *Anal. Bromatol.*, XXIV, 51.
- [11] SALA (F. J.) et BURGOS (J.) (1972). — *Anal. Bromatol.*, XXIV, 61.
- [12] SCHMIDT (J. L.) et LENOIR (J.) (1972). — *Le Lait*, n° 518, 536.
- [13] SCHORÜLLER (J.) et GELLRICH (W.) (1956). — *Z. Lebensm. Untersuch. u-Forsch.*, 103, 291.
- [14] UMBREIT (W. W.), BURRIS (R. H.) and STAUFFER (J. F.) (1964). — *Manometric Techniques*. 4a ed. Ed. Burgess Pub. Comp. Minnesota.