

Étude biochimique de la fonte des fromages

II. Evolution des phosphates et des métaux

par

B. O. LEE, et C. ALAIS*

I. INTRODUCTION

Dans un précédent article (Lee *et al.* [3]), nous avons étudié l'évolution de la matière protéique au cours de la fonte des fromages en présence de polyphosphate et nous avons essayé de cerner le phénomène de la « peptisation » par différentes méthodes analytiques et notamment par ultracentrifugation d'une suspension aqueuse, en l'absence de réactifs pouvant perturber l'état du produit.

La peptisation est la conséquence de l'action des sels de fonte qui jouent le rôle d'échangeurs d'ions ; le calcium du complexe phosphoparacéinate est remplacé par du sodium ; il en résulte un réarrangement des molécules protéiques et l'exposition des groupes hydrophiles (Scharpf [5], Van Wazer [7]). L'évolution du calcium au cours de ce processus est donc un point important ; de même que l'état des phosphates et, secondairement, celui du potassium et du magnésium.

Les études de la destinée des constituants salins dans le fromage fondu sont peu nombreuses et ont apporté plus d'hypothèses que de certitudes. Le calcium et le phosphore peuvent se trouver sous plusieurs formes dans les produits laitiers. Nous avons cherché à préciser la proportion de métal libre ou de phosphate libre, c'est-à-dire non liés, à la partie protéique séparée par ultracentrifugation. Les déterminations ont été faites dans diverses conditions de fonte et avec des matières premières variées. Des différences dans l'état des métaux et des phosphates entre le fromage fondu et sa matière première pourraient permettre de mieux comprendre l'effet des sels de fonte sur les protéines.

* Laboratoire de Biochimie Appliquée, Faculté des Sciences, C.O. 140 - 54037 Nancy cedex.

II. MATERIEL ET METHODES

Les fabrications de fromage fondu ont été réalisées par les Etablissements Rambol. Il s'agit de fabrications en pétrin normal à partir de produits traditionnels, dont les particularités seront précisées dans les résultats. Les sels de fonte sont les produits Joha S₄ (agent de fonte) et K (sel correcteur), à base de polyphosphates. Quelques expériences de fonte ont été réalisées en laboratoire à 100° C, avec un fromage d'Emmental.

Le dosage des métaux a été fait par émission de flamme pour le potassium et par absorption atomique pour le calcium et le magnésium dans les conditions opératoires précisées par Linden [4]. Les métaux totaux ont été dosés dans la suspension citratée. Les métaux « libres » ont été dosés dans le surnageant d'ultracentrifugation d'une suspension aqueuse de fromage à 300 000 × g pendant 45 min à 20° C (Lee *et al.*, [3], en l'absence de tout réactif.

Le phosphore total et le phosphore libre non sédimentable ont été dosés par colorimétrie après digestion sulfurique, par la réaction du molybdate d'ammonium et de l'hydroquinone et mesure de l'absorption à 740 nm.

Le dosage du phosphore sous forme orthophosphate a été fait dans le surnageant, sans digestion.

III. RESULTATS

3.1. Etat des cations

Six expériences de fonte ont été réalisées avec des fromages différents. Il s'agit de fabrications normales, mais sans lactoprotéines ni « préfonte » ; la masse de fromage était de 47 p. 100 du produit final et la dose de polyphosphate de 2,1 p. 100 (1,8 p. 100 de sel de fonte proprement dit et 0,3 p. 100 de sel « correcteur »).

Le tableau 1 présente les résultats de dosage des cations : Ca²⁺, Mg²⁺ et K⁺ dans le produit à fondre et dans le fromage fondu. Il est à noter que ces éléments ne sont présents qu'à l'état de traces dans le sel de fonte.

On remarque des différences au niveau de la matière première. Les Emmental sont plus riches en calcium (1,08-1,23 p. 100) que les Cheddar (0,79-0,91 p. 100) et la proportion de calcium « libre » (non sédimentable) est plus faible dans les premiers (39,0-51,8 p. 100) que dans les derniers (68-69 p. 100). La technologie fromagère explique ces différences. Ces observations ne s'appliquent pas au magnésium, ni au potassium.

TABLEAU 1

Evolution de la forme libre des métaux au cours de la fonte

Fromages	Calcium		Magnésium		Potassium	
	p. 100 du fromage	Ca libre p. 100 Ca total	p. 100 du fromage	Mg libre p. 100 Mg total	p. 100 du fromage	K libre p. 100 K total
1. <i>Emmental</i>						
a) Fromage à fondre	1,23	39,0	0,021	84,2	0,18	67,6
b) Fromage fondu	0,60	34,45	0,019	45,7	0,13	44,3
différence (a - b)		4,55		38,5		23,3
2. <i>Emmental</i>						
a) Fromage à fondre	1,08	51,85	0,05	80,0	0,114	64,5
b) Fromage fondu	0,48	35,4	0,025	65,2	0,093	54,0
différence (a - b)		16,45		14,8		10,5
3. <i>Cheddar</i>						
a) Fromage à fondre	0,79	69,0	0,035	78,6	0,104	61,6
b) Fromage fondu	0,33	50	0,02	64	0,09	71,2
différence (a - b)		19		14,6		-9,6
4. <i>Cheddar</i>						
a) Fromage à fondre	0,91	68,1	0,032	68,75	0,18	54,55
b) Fromage fondu	0,45	53,3	0,014	46,85	0,10	48
différence (a - b)		14,8		21,90		6,55
5. <i>Emmental + Cheddar</i>						
a) Fromage à fondre	1,04	53,7	0,033	67,4	0,19	60,8
b) Fromage fondu	0,36	41,6	0,019	44,2	0,12	42,6
différence (a - b)		12,1		23,2		18,2
6. <i>Gouda</i>						
a) Fromage à fondre	0,98	51,0	0,041	81,8	0,114	52,6
b) Fromage fondu	0,36	33,3	0,025	50,0	0,10	54,5
différence (a - b)		17,7		31,8		-1,9

Dans le fromage fondu, les concentrations en cations sont évidemment plus faibles du fait de la « dilution » du fromage brut dans le mélange. Ce qui est le plus remarquable c'est que la forme libre des métaux diminue toujours après la fonte, sauf dans deux cas pour le potassium.

En ce qui concerne le calcium, la baisse de la proportion de calcium libre (CaNS) du fait de la fonte est à première vue surpré-

nante ; il y a apparemment plus de calcium lié aux protéines sédimentables après la fusion car il est peu probable qu'un sel de calcium se trouve sous forme insoluble en présence de polyphosphates. Nous avons cherché à savoir si la proportion des sels de fonte influait sur l'état libre du calcium. Le tableau 2 montre les résultats d'une expérience de fonte d'un mélange habituel de fromage avec 3 doses de sel. On voit qu'il y a une relation entre la concentration en polyphosphate et la proportion de calcium non sédimentable qui varie dans le même sens. Avec de fortes doses de polyphosphates, la chute du calcium libre observée ci-dessus, et que l'on pourrait interpréter comme une rétention de calcium, est probablement limitée. Mais il faut observer qu'on a dépassé la dose maximale admise par la législation (3 p. 100).

TABLEAU 2

Forme libre des métaux après la fonte en fonction de la dose de polyphosphates

Sel de fonte p. 100	Calcium		Magnésium		Potassium	
	p. 100 du fromage Ca t	non sédiment. p. 100 Ca t	p. 100 du fromage Mg t	non sédiment. p. 100 Mg t	p. 100 du fromage Kt	non sédiment. p. 100 Kt
0,85	0,42	33,3	0,017	22,4	0,116	48,3
1,37	0,42	44,2	0,017	25,9	0,136	45,6
3,33	0,42	60,5	0,017	41,2	0,121	43,0

Le magnésium se comporte à peu près comme le calcium. Par contre, le potassium évolue de manière différente. On relève qu'une fraction notable de ce cation est retenue dans la masse protéique sédimentée ; cette situation est normale, étant donné qu'il y a échange du calcium par les cations alcalins au cours de la fonte. Les proportions ne changent guère lorsque la teneur en polyphosphate est augmentée.

Afin de mettre en évidence ce qui se passe, au niveau du calcium, au cours de la fonte, avec de faibles concentrations en polyphosphates, on a réalisé une série d'expériences de fonte d'un Emmental à petite échelle au laboratoire, en ne faisant varier que ce facteur. La courbe

« CaNS » de la figure 1 traduit les variations de la proportion de calcium non sédimentable.

Après la fonte sans sel, le calcium « libre » diminue de 3,6 p. 100 par rapport au fromage affiné ; avec 0,5 p. 100 de sels de fonte une nouvelle chute de 10 p. 100 environ se produit ; avec de plus fortes doses, la valeur augmente régulièrement ; mais avec 3 p. 100 de sels, elle ne rejoint pas encore la valeur initiale.

La courbe de l'évolution de l'azote non sédimentable, au cours de l'expérience précédente, a été également tracée. On observe ici aussi une baisse de la proportion de NSN de 6 p. 100 environ lors de la fonte sans sels ; mais avec de faibles doses de sels, NSN remonte

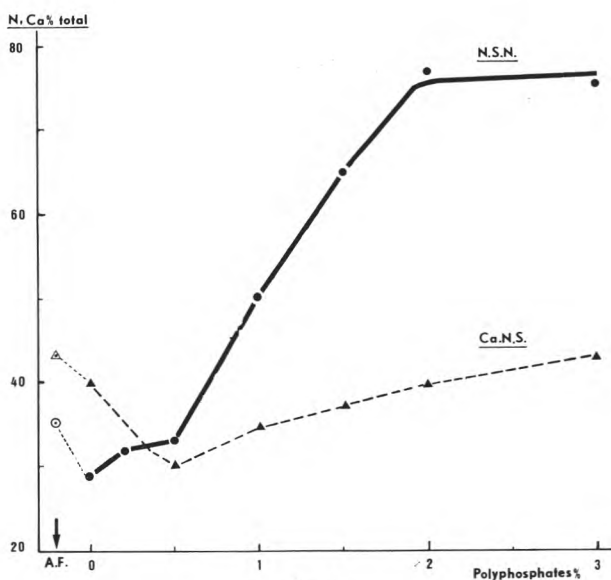


fig. 1

Evolution des proportions du calcium et de l'azote non sédimentables en fonction de la concentration en polyphosphates (A.F. : fromage d'Emmental affiné ; expériences de fonte au laboratoire).

fortement et à partir de 0,5 p. 100 dépasse de beaucoup la valeur initiale.

Les résultats ci-dessus ont été obtenus après un refroidissement rapide de la masse fondue. Quelques essais comparatifs de refroidissement lent ont montré que la proportion de calcium libre diminue

faiblement, mais régulièrement (4 p. 100 en moyenne), alors que la proportion de NSN varie d'une manière irrégulière.

La chute de la proportion du calcium libre a été observée à nouveau avec la fonte d'un Cheddar, qui a des caractéristiques analytiques très différentes de l'Emmental utilisé précédemment. La fonte sans sel a provoqué une chute de 18 p. 100 du calcium libre (valeur dans la matière première : 68 p. 100) ; la fonte industrielle avec 1,8 p. 100 de sel a provoqué, comme ci-dessus, un relèvement du calcium libre (53,3 p. 100), sans remonter à la valeur initiale.

3.2 Etat du phosphore

Dans le tableau 3 (partie A) sont présentés les résultats des analyses effectuées au cours des fabrications normales n^{os} 1, 4 et 5 de

TABLEAU 3

Evolution de la forme libre du phosphore au cours de la fonte

	P total p. 100 du fromage	Phosphore non sédimentable (p. 100 Pt)	
		PNS	PI
<i>A. Fonte industrielle*</i>			
I. Emmental affiné	0,73	36,3	24,7
Emmental fondu	0,96	74,5	72,9
IV. Cheddar affiné	0,65	45,4	36,9
Cheddar fondu	0,90	68,3	64,4
V. Emmental + Cheddar affiné	0,69	42,0	27,5
Emmental + Cheddar fondu	0,92	62,5	58,7
<i>B. Fonte au laboratoire</i>			
— Emmental affiné	0,62	38,6	
— Fondu au citrate (2 p. 100)	0,365	73,7	
— Fondu au polyphosphate (2 p. 100)	0,795	80,8	

* Voir paragraphe 3.1. ; le P des polyphosphates représente 0,56 p. 100 du Pt.

la série ayant donné lieu à l'étude des cations. Comme pour ces derniers on a déterminé le « phosphore libre » par ultracentrifugation, mais ici on a distingué le phosphore non sédimentable total (PNS) dosé après digestion acide, du phosphore directement dosable (PI) qui est celui des orthophosphates, les polyphosphates ne réagissant pas dans les conditions de l'analyse.

Il est à noter que les valeurs de PI, dans le fromage affiné se situent à un niveau inférieur de 10 p. 100 en moyenne à celui des valeurs de PNS ; il existe dans la fraction non sédimentable du phosphore organique.

Dans les fromages fondus, la situation est plus complexe du fait de l'apport des polyphosphates. La proportion de PNS devient très élevée. Il est certain qu'une partie importante des polyphosphates ne

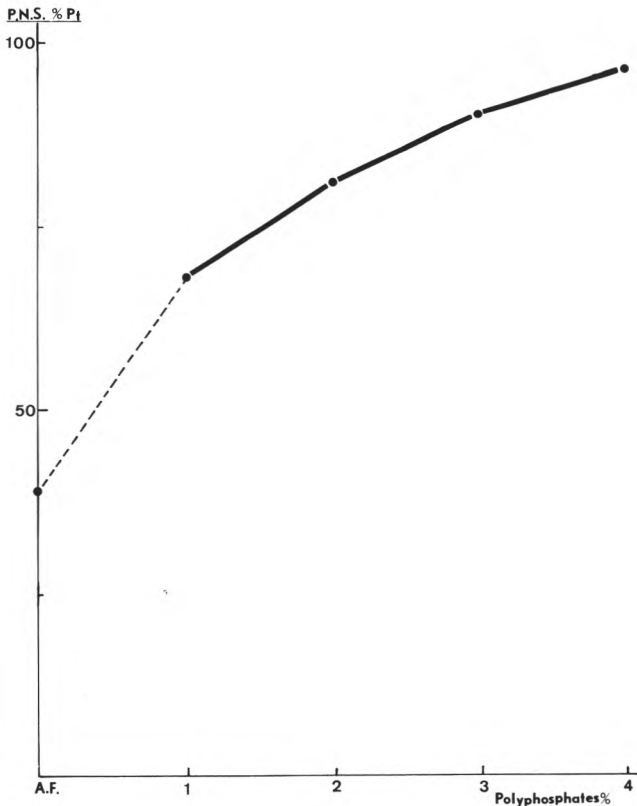


fig. 2

Evolution de la proportion de phosphore non sédimentable en fonction de la teneur en polyphosphates (A.F. : fromage d'Emmental affiné ; expériences de fonte au laboratoire).

se sédimente pas avec les protéines non peptisées ; en outre, le traitement thermique doit les dégrader largement car la fraction orthophosphate (P1) représente de 94 à 98 p. 100 de PNS.

Une expérience de fonte au laboratoire, avec des doses de polyphosphate variant de 1 à 4 p. 100 (fig. 2) montre que la proportion de PNS tend vers 100 p. 100. Une expérience de fonte avec 2 p. 100 de citrate de sodium pur (le pH étant ajusté au même niveau que pour les fontes au polyphosphate) a donné les résultats portés dans le tableau 3 (partie B). On voit que la proportion de phosphore non sédimentable augmente indiscutablement au cours de la fonte.

IV. DISCUSSION

Nous avons suivi l'évolution de la « forme libre » du calcium au cours de la fonte ; c'est celle qui est présente dans le surnageant d'ultracentrifugation ; cela ne signifie pas qu'elle soit entièrement constituée d'ions Ca^{2+} ou de chélates ; une partie peut être liée aux protéines peptisées (Lee *et al.*, [3]). Il n'y a probablement pas formation de sels insolubles de calcium si l'on admet avec Van Wazer [6] que les polyphosphates alcalins empêchent la précipitation ; sauf lorsque leur concentration est insuffisante.

La proportion de calcium libre diminue après la fonte ; la chute est très marquée avec les faibles doses de polyphosphates ; ensuite, la proportion s'élève, mais elle reste inférieure, dans les conditions habituelles de la fonte, à la valeur mesurée dans le fromage affiné.

La proportion d'azote non sédimentée baisse très légèrement avec des doses minimales de polyphosphate mais elle augmente rapidement au-delà de 0,5 p. 100 et devient très supérieure à la valeur initiale. Les deux évolutions (NSN et CaNS) ne sont donc pas parallèles.

Dans le cas du phosphore, l'interprétation des résultats de la fonte aux polyphosphates est malaisée. Cependant, la fonte avec du citrate pur confirme un fort accroissement du phosphore non sédimentable ; avec 2 p. 100 de sel la proportion est presque doublée. La dégradation des polyphosphates en orthophosphates est un fait évident.

Pour expliquer l'évolution des « formes libres » du calcium et du phosphore, on doit tenir compte de certaines données acquises précédemment. Bonell [1] a distingué nettement la phase de refroidissement, au cours de laquelle se produit une restructuration du système protéique et salin, fortement modifié au cours de la fusion proprement dite. La structure rigide dépendrait de la formation de nouvelles liaisons de type salin qui impliqueraient soit le calcium (Habicht [2]), soit le complexe polyphosphate-Ca lui-même. La liaison de ce complexe avec les protéines du lait a été admise par Vujicic *et al.* [8] avec comme conséquence la diminution du calcium soluble.

Dans le cas de la fonte avec différentes doses de polyphosphates, il semble y avoir un seuil critique, que la figure 1 met en évidence vers 0,5 p. 100. A une dose inférieure à celle-ci, les chaînes de polyphosphates sont rapidement saturées par le calcium libre du fromage ; il en résulte une peptisation très limitée ; au cours du refroidissement les complexes polyphosphate Ca peuvent se lier avec des protéines non peptisées, ce qui explique la baisse de CaNS. A forte dose, les polyphosphates captent à la fois le calcium libre et celui lié aux protéines, d'où une forte peptisation ; pendant le refroidissement les complexes phosphate-Ca forment des liaisons intermoléculaires avec les protéines peptisées et une partie peut rester sous forme libre ; ceci concorde avec l'augmentation de CaNS. La forte augmentation de PNS est probablement due au fait que les polyphosphates ne sont plus en état de saturation complète par le calcium, lorsque leur concentration s'accroît. Etant donné que l'augmentation de PNS s'observe aussi lors de la fonte avec le citrate, il faut admettre qu'au cours du processus une grande partie du phosphore du fromage passe dans la forme peptisée des protéines ou se retrouve sous forme d'orthophosphate. L'évolution du phosphore et celle du calcium sont donc divergentes.

Nous poursuivons cette étude de l'évolution des minéraux au cours de la fonte au moyen d'autres méthodes d'investigation.

Remerciements

Nous remercions M. D. Paquet pour la lecture critique du manuscrit et MM. G. Linden et S. Fujino pour leur aide dans certaines analyses. Nous remercions les Etablissements Rambol pour les expériences de fonte à l'échelle industrielle.

Résumé

On a déterminé les proportions de P, Ca, Mg et K non sédimentables après ultracentrifugation à $300\,000 \times g$, sans réactif, de la suspension aqueuse de fromage. Le phosphore et le calcium ne se comportent pas de la même manière. CaNS décroît nettement dans le fromage fondu avec de faibles doses de polyphosphates; ensuite, il s'élève en augmentant les doses, sans revenir au niveau initial. PNS s'accroît fortement après la fonte ; les polyphosphates sont en grande partie hydrolysés en orthophosphates.

Le calcium intervient probablement dans la phase finale, lorsque le fromage fondu acquiert au cours du refroidissement sa texture définitive.

Summary

BIOCHEMICAL STUDY OF THE CHEESE PROCESSING II. EVOLUTION OF PHOSPHATES AND CATIONS

The proportions of P, Ca, Mg and K have been determined in the ultracentrifugation supernatant ($300\,000 \times g$) of an aqueous cheese dispersion without any reagent. Phosphorous and calcium do not behave similarly. The unsedimentable calcium (CaNS) notably decreases in the cheese processed with small amounts of polyphosphate; then it increases slowly with more important amounts; but CaNS does not recover one's initial level. In the case of phosphate, PNS rises strongly after melting process; the polyphosphates are hydrolyzed in a great part.

Calcium probably intervenes in the last phase of the process, when cheese is acquiring the definitive texture during the cooling.

Reçu pour publication en février 1980.

Bibliographie

- [1] BONELL (W.) (1971). — Processus physico-chimiques dans la fabrication du fromage fondu. *Deutsche Milkerei Zg*, 92, 33, 1415-1420.
- [2] HABICHT (L.) (1934). — On the scientific basis of the cheese meeting process. *Milchwirtschaftliche Forsch.*, 16, 347-387.
- [3] LEE (B. O.), PAQUET (D.) et ALAIS (C.) (1979). — Etude biochimique de la fonte des fromages. I. Mesure de la peptisation. *Le Lait*, 59, 589-596.
- [4] LINDEN (G.) (1971). — Application de la spectrophotométrie d'absorption atomique dans les laboratoires d'industrie alimentaire. *Ind. Alim. Agric.*, 88, 793.
- [5] SCHARPF (L.) (1971). — Symposium : phosphates in food processing. AVI Publ. Co. Inc.
- [6] VAN WAZER (J. R.) (1958). — Phosphorus and its compounds. Vol. I, Chemistry. Inter Sci. Publ. N.Y.
- [7] VAN WAZER (J. R.) (1961). — Food and dentifrice application. In «phosphorus its compounds». Vol. II, Technology, Biological Function and Application. Inter Sci. Publ. N.Y.
- [8] VUJICIC (I.), DE MAN (J. M.) and WOODROW (I. L.) (1968). — Interaction of polyphosphates and citrate with skim milk proteins. *Canadian Institut of Food Chemistry*, 1, 17-21.