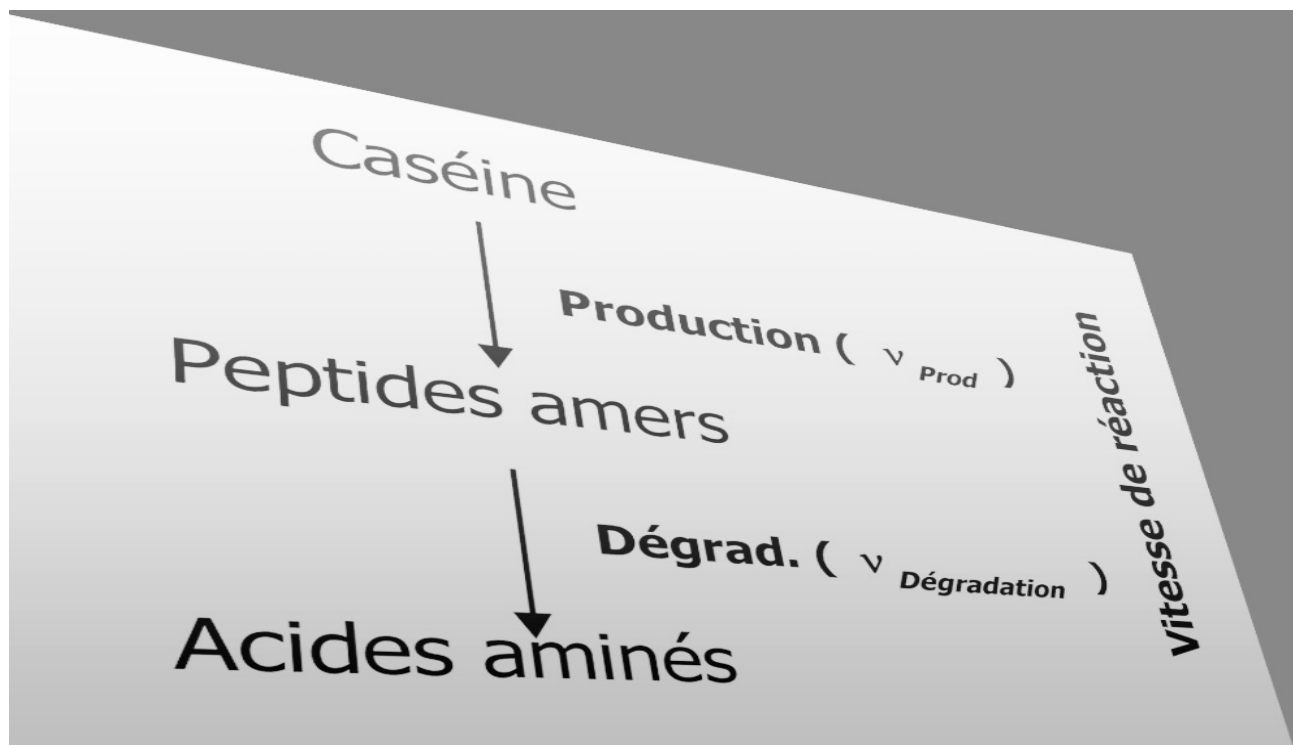


AMERTUME DANS LE FROMAGE

Groupes de discussion



Inhalt

1	Introduction	3
2	La perception des substances amères	3
2.1	Le sens du goût	3
2.2	Perception individuelle de l'amertume	4
2.3	Interactions entre différentes substances amères	4
3	Composés du fromage au goût amer	4
3.1	Sels minéraux	5
3.2	Substances amères générées par la protéolyse	5
4	La formation des peptides amers	6
4.1	La protéolyse	6
4.2	Enzymes participant à la protéolyse	7
4.3	Sources des peptides amers	8
5	Facteurs d'influence	9
5.1	Composition des fromages	9
5.2	Qualité du lait	9
5.3	Facteurs d'influence technologiques	10
6	Mesures pour lutter contre l'amertume	14
7	Méthodes d'analyse des peptides amers	15
8	Perspectives	15
9	Résumé	16
10	Sources	16

1 Introduction

Dans quelques sortes de fromage, comme le Vacherin fribourgeois, une note légèrement amère est une composante du goût. Pourtant, dans la plupart des fromages, l'amertume est considérée comme un défaut et est donc indésirable. Les fromages à pâte mi-dure, ceux à pâte molle à croûte fleurie de même que les fromages avec une teneur en matière grasse réduite sont particulièrement sujets à l'amertume.

Ce document résume l'état des connaissances au sujet de l'amertume des fromages et présente les processus complexes qui peuvent générer un goût amer dans un fromage de même que les différentes mesures possibles pour lutter contre ce défaut.

2 La perception des substances amères

2.1 Le sens du goût

L'amertume est l'une des cinq sapidités connues que nous sommes capables de percevoir avec notre organe du goût. Les quatre autres sont: le sucré, l'acidité, le salé et l'umami.

La sapidité „umami“ est encore peu connue. Ce terme vient du japonais et sa traduction signifie à peu près „semblable à la viande“, „appétissant“. La sapidité „umami“ est générée par exemple par l'acide glutamique, un acide aminé présent en abondance dans les fromages à pâte dure arrivés à maturité en fin d'affinage.

Il y a pour chaque sapidité des récepteurs spécifiques. Ceux-ci se trouvent dans les papilles gustatives situées sur la langue, mais aussi, en moins grande quantité, dans le palais et le pharynx. Sur la figure 1, on peut voir sur quelle partie de la langue les différentes sapidités sont particulièrement bien perçues. Pour l'amertume, il s'agit de la partie postérieure de la langue. La théorie des champs de perception strictement limités à une zone n'est donc plus actuelle.

Il est intéressant d'observer que la perception du sucré et de l'acide sont très proches l'une de l'autre. Il suffit souvent d'une petite modification chimique pour qu'une molécule édulcorante ait un goût acide (et vice versa).

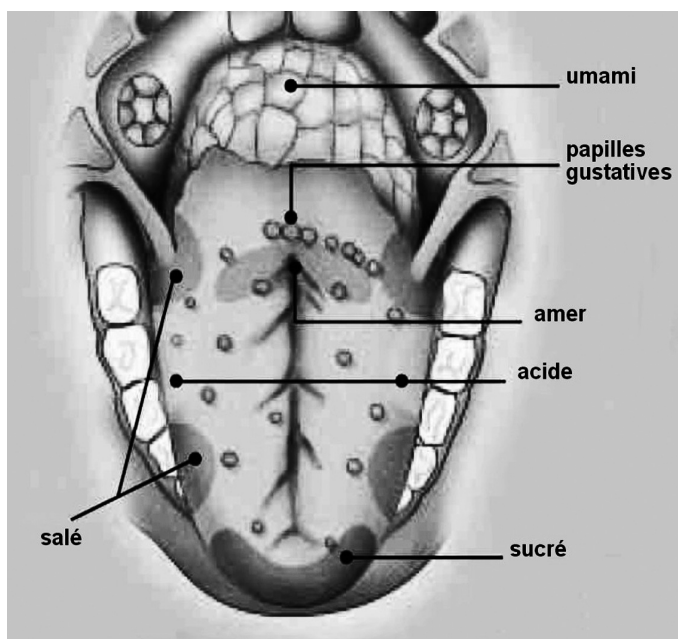


Fig. 1: Perception des cinq sapidités dans la cavité buccale (source de la fig. [1])

2.2 Perception individuelle de l'amertume

L'être humain a une répugnance naturelle contre l'amertume. Les biologistes expliquent ce phénomène par le fait que de nombreuses substances toxiques végétales ont un goût amer.

Le goût amer est donc probablement un signal d'alarme qui nous protège contre la consommation d'aliments indigestes. Cette thèse est étayée par le fait que tous les vertébrés réagissent aux substances amères. En ce qui concerne l'homme, il possède plusieurs types de récepteurs des substances amères qui réagissent spécifiquement à différents groupes de substances amères.

Tous les hommes ne perçoivent pas l'amertume avec la même intensité. Les enfants par exemple réagissent plus sensiblement que les adultes. Avec l'âge croissant, la sensibilité du sens de l'organe vis-à-vis de certains composés amers diminue. On constate aussi des différences ethniques. Selon une étude, la tolérance des asiatiques vis-à-vis du goût amer dans le fromage est sensiblement plus faible que celle des Irlandais ou de la population blanche d'Australie.

2.3 Interactions entre différentes substances amères

Tout le monde sait que la perception gustative négative d'un thé amer ou d'un jus de fruit trop acide peut être atténuée par l'absorption d'une boisson ou d'un aliment sucré. Ce type d'interactions se retrouve aussi dans le fromage. Ainsi, les composés amers dans le fromage sont perçus moins intensivement lorsque les teneurs en sel sont plus élevées.

Mentionnons encore le fait que la note souvent légèrement amère du fromage à raclette dégusté froid n'est plus perçue lorsque le fromage est fondu.

3 Composés du fromage au goût amer

Il y a dans le fromage une multitude de substances qui au-delà d'une certaine concentration ont un goût amer (tab. 1).

Tab. 1: Substances amères dans le fromage

Grroupes de substances	Composé	Origine
Sels minéraux	Calcium, magnésium et potassium sous la forme d'ions libres	Composants lactiques naturels
Acides aminés (AA) - AA hydrophobes - AA basiques	Tryptophane, Isoleucine, tyrosine, phénylalanine, leucine, valineLysine, arginine	Protéolyse (maturation en „profondeur“)
Peptides amers (peptides hydrophobes)	Oligopeptides de taille moyenne riches en AA hydrophobes (cf. ci-dessus)	Protéolyse (maturation en „largeur“)
Amines biogènes	adavérine	Produits de décomposition de l'AA lysine
Acides aminés formés de façon secondaire	Ornithine, citrulline	Produits de décomposition de l'arginine
Autres composés	Cétones à chaîne longue, acide gras iso, monoglycérides, etc.	Produits de décomposition des acides aminés et des lipides

La présence simultanée de différentes substances amères peut renforcer la perception de l'amertume.

3.1 Sels minéraux

Calcium et magnésium

Les sels de ces deux métaux ont un goût fortement amer dans la mesure où ils sont hydrosolubles et se dissocient en ions libres. Le fromage contient jusqu'à 13 g de calcium et jusqu'à 0,4 g de magnésium par kg. La plus grande partie de ces sels est cependant liée à la caséine sous la forme de complexes de phosphates; ils ne sont donc pas présents sous la forme d'ions libres. Par conséquent, le Ca et le Mg peuvent avoir une certaine influence sur l'amertume du fromage dans la mesure où la partie ionisée est augmentée, ce qui peut arriver, selon les circonstances, en présence d'un pH bas ou d'une teneur en acide lactique élevée. Toutefois, les teneurs en calcium et en magnésium du fromage jouent un rôle secondaire dans la formation de l'amertume.

L'ajout de chlorure de calcium dans le lait de cuve pasteurisé est de moindre importance pour le goût. Les quantités utilisées selon la BPF augmente la teneur du calcium total de moins d'un 1 %.

Potassium

Les sels de potassium ont eux aussi un goût amer. Les quantités de potassium dans le fromage (0,5 à 1 g/kg) sont toutefois insignifiantes. Dans le cas de l'ajout de chlorure de potassium pour la fabrication de fromages pauvres en sel (remplacement du NaCl par du KCl), la formation de l'amertume représente un obstacle.

3.2 Substances amères générées par la protéolyse

Peptides amers

La cause de loin la plus importante de l'amertume est l'accumulation de peptides amers dans la pâte du fromage. Celles-ci se forment lors de la dégradation enzymatique de la caséine pendant la maturation de la pâte. Les peptides amers ont les propriétés suivantes:

- une forte concentration d'acides aminés hydrophobes (cf. tab. 1).
- une tendance à être fortement hydrophobes et liposolubles.
- un poids moléculaire de 500 à 4000 Dalton (longueur des chaînes 4-30 acides aminés)

Les peptides les plus amers ont des chaînes d'une longueur de 5 à 10 acides aminés.

Acides aminés amers

Quelques acides aminés ont aussi un goût amer. Il s'agit des acides aminés hydrophobes (cf. tab. 1) de même que de la lysine et de l'arginine, deux acides aminés basiques. Les peptides riches en ces acides aminés ont un goût sensiblement plus amer qu'un mélange correspondant d'acides aminés libres. La dégradation des protéines en profondeur a donc le plus souvent pour effet une diminution de l'amertume.

Citrulline et ornithine, cadavérine

La citrulline et l'ornithine sont deux produits de dégradation, au goût amer, de l'acide aminé arginine. La citrulline et l'ornithine sont aussi, d'un point de vue chimique, des acides aminés. Ils ne sont cependant pas présents dans les protéines.

La cadavérine fait partie des amines biogènes et se forme à partir de la lysine lors de la scission du CO₂. Pour ce processus, la lysine doit être présente sous la forme d'acide aminé libre, c'est pourquoi la cadavérine n'est synthétisée que dans le fromage arrivé à maturité. Les enzymes à l'origine de la scission du CO₂ (décarboxylases) sont produits entre autres par les entérocoques, quelques lactobacilles hétérofermentaires facultatifs de même que par des bactéries de la morge.

4 La formation des peptides amers

4.1 La protéolyse

La dégradation des protéines (protéolyse) dans le fromage est un processus en plusieurs étapes. Dans un premier temps, les protéases et les endopeptidases séparent la para-caséine composée des caséines α_{s1} -, α_{s2} -, de la caséine β et de la para-caséine K (tab. 2) en peptides de plus petite et de plus grande taille.

On nomme ce processus la **protéolyse primaire** ou protéolyse „en largeur“. Elle s'exprime par l'augmentation d'azote hydrosoluble dans le fromage. Les endopeptidases (protéases), spécialisées dans la scission des protéines et des grands polypeptides, sont à l'origine de la protéolyse primaire. Elles scindent les liaisons peptidiques à l'intérieur de la chaîne de molécules (fig. 2).

Lors de la protéolyse secondaire, les fragments de protéines continuent à être décomposés jusqu'au niveau des acides aminés. On parle aussi de pro-

téolyse „en profondeur“, mesurable au moyen de la teneur dans le fromage en acides aminés libres (valeur OPA). Dans ce processus, ce sont les exopeptidases qui jouent un rôle important; celles-ci scindent des petits peptides ou des acides aminés particuliers à la fin de la chaîne.

Les peptides amers dont les chaînes sont longues de 4 à 30 acides aminés se trouvant dans le domaine des peptides de grandeur moyenne, on peut dire d'une façon générale que la protéolyse en largeur favorise la formation de l'amertume, alors que la protéolyse en profondeur entraîne une diminution de l'amertume, en raison de la dégradation ultérieure des peptides amers en di et tripeptides de même qu'en acides aminés. Il n'est donc pas rare que l'amertume soit une manifestation passagère. Par exemple, le Gruyère est parfois contesté en raison de l'amertume lors de la taxation. Or, le Gruyère arrivé à maturité n'enregistre que rarement une amertume.

Tab. 2: Composition de la caséine coagulée par la présure

Fraction de caséine	Part en %	Poids moléculaire	Longueur de la chaîne (nombre d'acides aminés)
caséine α_{s1}	40%	23'500	199
caséine α_{s2}	11%	25'100	207
caséine β	40%	23'980	209
para-caséine K	9%	12'271	105

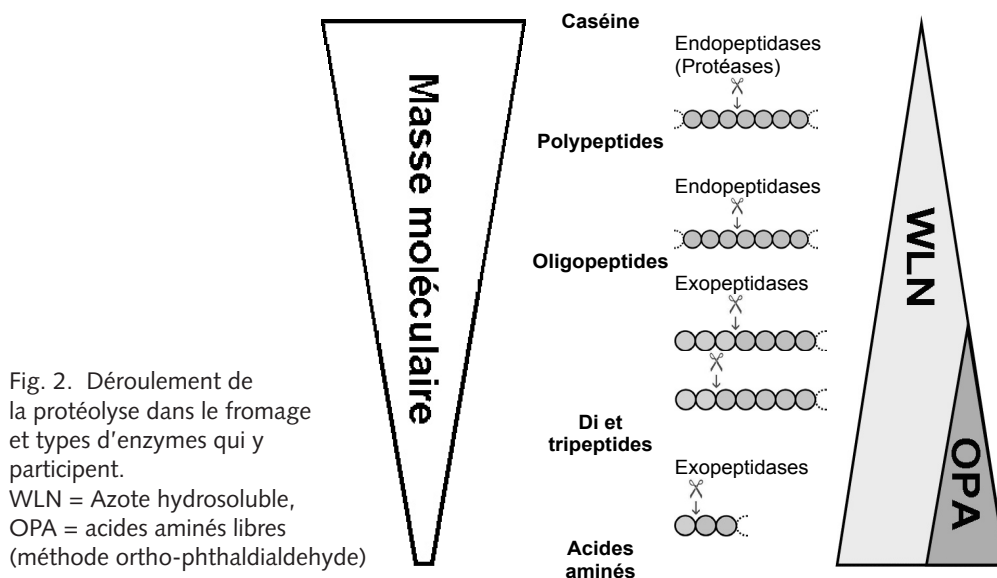


Fig. 2. Déroulement de la protéolyse dans le fromage et types d'enzymes qui y participent.
WLN = Azote hydrosoluble,
OPA = acides aminés libres (méthode ortho-phthaldialdéhyde)

4.2 Enzymes participant à la protéolyse

La dégradation des protéines dans le fromage est l'œuvre d'une armada de différentes protéases et peptidases (tab. 3). Chacun de ces enzymes réagit en effet de façon très spécifique. Les enzymes de la famille des prolylpeptidases par exemple ne peuvent séparer les liaisons peptidiques qu'entre la proline et un acide aminé qui suit. Il est ainsi clair que la dégradation des protéines dans le fromage peut se dérouler de façon très différente selon le mélange de peptidases.

La protéolyse primaire est avant toute chose l'œuvre des enzymes de coagulation du lait et des protéases du lait (fig. 3). Les protéases liées aux parois cellulaires des bactéries lactiques jouent un rôle

non négligeable; pour les fromages emmorgés, les protéases de la flore de la morge et celles des moisissures sont aussi importantes.

La protéolyse secondaire, c'est-à-dire la dégradation des oligopeptides (en partie amers) est effectuée pratiquement exclusivement par les peptidases des bactéries lactiques. Ces peptidases, en particulier les exopeptidases, sont principalement localisées dans le liquide cellulaire. Afin qu'elles puissent déployer tous leurs effets dans le fromage, les cellules des bactéries doivent lyser afin de synthétiser les enzymes. Des essais ont effectivement montré que les fromages fabriqués avec des souches de bactéries lactiques qui lysent mal ont une plus forte tendance à l'amertume.

Tab. 3: Les enzymes protéolytiques les plus importants dans le fromage

Origine	Type	Représentant	Optimum pH	Remarque
Enzyme de la coagulation par la présure	Protéases (Endopeptidases)	Chymosine Pepsine	<5	thermo-instable
Protéases propres au lait	Protéases (Endopeptidases)	Plasmine Cathepsine	7.5 <5	thermo-stable
Protéases de bactéries lactiques - liées à la paroi cellulaire	Protéases (Endopeptidases)	Lactocépine Autres	5.5-6.5 6-8	
- intracellulaires	Exopeptidases	Aminopeptidases	6.5-8	p.ex.: LAP

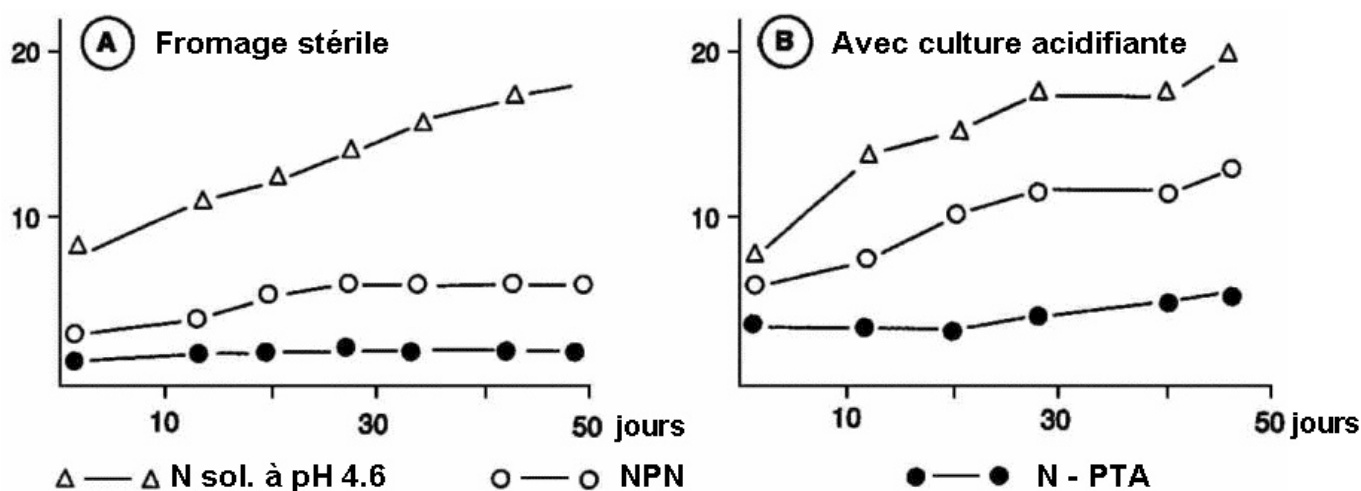


Fig. 3: Contribution des enzymes protéolytiques de la présure et des cultures à la dégradation des protéines dans le fromage. Essai A: fromage stérile sans culture (acidifiée avec du glucono-δ-lactone). Essai B: acidifié avec des cultures (source [6]).
N sol. à pH 4,6: azote soluble à un pH de 4,6 → peptides + acides aminés
NPN: azote non protéique → oligopeptides + acides aminés
N-PTA sol.: N soluble dans l'acide phosphotungstique → Di & tripeptides + acides aminés

4.3 Sources de peptides amers

Les caséines sont des protéines relativement hydrophobes. A l'intérieur des molécules, il y a des segments qui sont particulièrement riches en acides aminés hydrophobes et en proline. Si ceux-ci sont libérés par certains enzymes, des peptides particulièrement hydrophobes qui ont parfois un goût fortement amer se forment. La plupart des peptides amers connus sont dérivés de la caséine α_1 et de la caséine β . Ceci est aussi dû au fait que la caséine est présente en plus grande quantité (cf. tab. 1). Toutefois, la caséine α_2 et la paracaseine K très hydrophobes sont des sources potentielles de peptides amers. Dans les fromages au lait ultrafiltré, on tient aussi compte de la β -lactoglobuline comme source. Dans les essais effectués, les hydrolysats de protéines du petit-lait enregistraient beaucoup moins d'amertume que les hydrolysats de caséine.

Arg¹-glu-**leu**-glu-glu-**leu**-asn-**val**-pro-gly¹⁰-
glu-**ile**-**val**-glu-ser-**leu**-serP-serP-serP-glu²⁰-
glu-ser-**ile**-thr-arg-**ile**-asn-lys-lys-**ile**³⁰-glu-
lys-**phe**-gln-serP-glu-glu-gln-gln-gln⁴⁰-thr-
glu-asp-glu-**leu**-gln-asp-lys-**ile**-his⁵⁰-pro-
phe-ala-gln-thr-gln-ser-**leu**-**val**-**tyr**⁶⁰-pro-
phe-pro-gly-pro-**ile**-pro-asn-ser-**leu**⁷⁰-pro-
gln-asn-**ile**-pro-pro-**leu**-thr-gln-pro⁸⁰-pro-
val-**val**-**val**-pro-pro-**phe**-**leu**-gln-pro⁹⁰-glu-
val-met-lys-**val**-ser-lys-**val**-lys-glu¹⁰⁰-ala-
met-ala-pro-lys-his-lys-glu-met-pro¹¹⁰-**phe**-
pro-lys-**tyr**-pro-**val**-gln-pro-**phe**-thr¹²⁰-glu-
ser-gln-ser-**leu**-thr-**leu**-thr-asp-val¹³⁰-glu-
asn-leu-his-**leu**-pro-pro-**leu**-**leu**-**leu**¹⁴⁰-gln-
ser-**trp**-met-his-gln-pro-his-gln-pro¹⁵⁰-**leu**-
pro-pro-thr-**val**-met-**phe**-pro-pro-gln¹⁶⁰-
ser-**val**-**leu**-ser-**leu**-ser-gln-ser-lys-**val**¹⁷⁰-
leu-pro-**val**-pro-glu-lys-ala-**val**-pro-**tyr**¹⁸⁰-
pro-gln-arg-asp-met-pro-**ile**-gln-ala-**phe**¹⁹⁰-
leu-**leu**-**tyr**-gln-gln-pro-**val**-**leu**-gly-pro²⁰⁰-
val-arg-gly-pro-**phe**-pro-**ile**-**ile**-**val**²⁰⁹-OH

Fig. 4: séquence d'acides aminés de la caséine β A². Les acides aminés hydrophobes sont en caractères gras. Les segments particulièrement hydrophobes, desquels sont issus des peptides amers, sont soulignés.

Jusqu'à aujourd'hui, une douzaine de peptides amers ont été isolés du fromage. Le plus connu est le peptide Cn β f193-209 qui englobe la partie finale à partir de la position 193 de la chaîne d'acides aminés de la molécule de caséine β , qui est longue donc au total de 17 acides aminés. (fig. 4). La caséine β est assez riche en proline. Les peptides amers riches en proline sont relativement résistants à la protéolyse étant donné que les composés peptidiques de la proline ne peuvent être décomposés que par des peptidases spécifiques à celle-ci. La capacité des bactéries lactiques à synthétiser de telles peptidases semble donc une propriété importante des souches réduisant l'amertume.

Accumulation de peptides amers

Les peptides amers se forment en principe dans tous les fromages. L'amertume n'est perçue que quand la concentration de la valeur sensorielle limite est dépassée. Cela est fonction du processus qui se déroule le plus rapidement: la synthèse ou la dégradation des peptides amers (fig. 5).

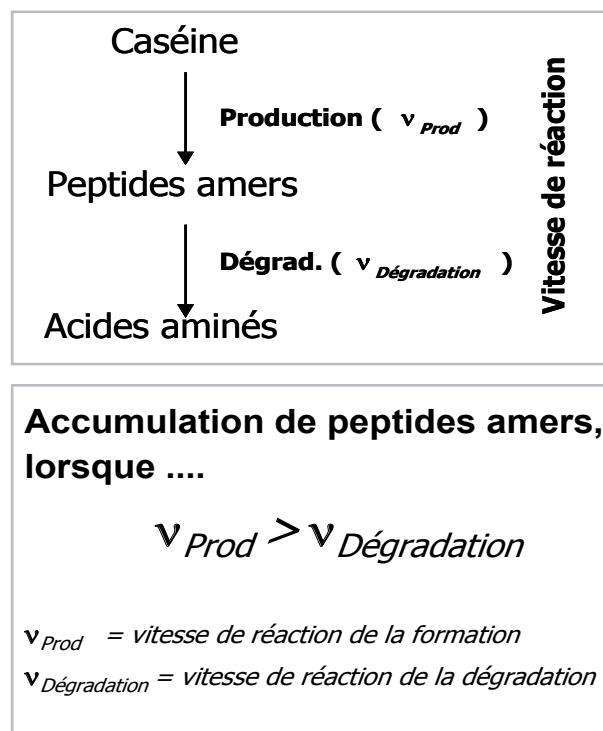


Fig. 5: Importance de la vitesse de réaction de la formation et de la dégradation des peptides amers pour la formation de l'amertume dans le fromage (selon B. Mietton, ENILBIO, Poligny F)

5 Facteurs d'influence

5.1 Composition des fromages

Le fait que certaines sortes de fromage ont une plus forte tendance à l'amertume dépend en partie de la composition. Les facteurs suivants jouent à cet effet un rôle important:

Teneur en eau

Une teneur en eau élevée dans le fromage allégé favorise la protéolyse en largeur, ce qui favorise à son tour la formation de peptides amers. Ainsi, les fromages à pâte molle et mi-dure sont plus souvent sujets à l'amertume que les fromages à pâte dure.

Teneur en graisse

Les fromages avec une teneur en graisse réduite sont particulièrement sujets à l'amertume. La graisse masque l'amertume jusqu'à un certain degré, car les peptides amers hydrophobes sont liposolubles. Dans la graisse, les substances amères dissoutes ne peuvent pas si facilement entrer en contact avec les récepteurs de l'amertume situés dans la bouche.

Teneur en sel

Le sel dans le fromage a une influence sur l'amertume du fromage à deux niveaux différents, notamment en

1. masquant le goût amer (perception réduite des substances amères)
2. influençant la protéolyse

Le sel influence la protéolyse de différentes manières. Une teneur en sel croissante provoque les modifications suivantes:

- Hydratation réduite (liaison de l'eau) des caséines de sorte qu'elles sont difficilement accessibles aux protéases,
- Réduction de l'activité de la plupart des protéases (ceci est valable en particulier pour la chymosine et la pepsine, la présure atteint son activité maximale à 2,5-4% de sel dans la phase aqueuse);
- Déplacement de l'activité protéolytique en faveur des peptidases (activité des peptidases plutôt croissante) à partir de 4% NaCl dans la phase aqueuse: augmentation de l'activité des aminopeptidases des lactocoques réduisant l'amertume).

5.2 Qualité du lait

En ce qui concerne la qualité du lait cru, deux facteurs en particulier sont importants:

- La flore bactérienne
- La santé de la mamelle

Les germes étrangers fortement protéolytiques, auxquels appartiennent les représentants de la flore psychrotrophe (*Pseudomonas*, *Bacillus spp.*, levures), sont connus pour produire des peptides amers en particulier dans le lait. De même, les souches sauvages des lactobacilles hétérofermentaires facultatifs, qui peuvent atteindre des concentrations élevées dans le fromage en phase de maturation, sont en mesure, selon la souche, d'influencer négativement la protéolyse.

Le lait de vaches atteintes d'une mammite enregistre une activité de la plasmine beaucoup plus élevée, à tel point que parfois, les caséines, sensibles aux plasmines (Cn α_{52} und Cn β) peuvent dans une traite de ce type être dégradée dans une large mesure après déjà 24 h. Dans le lait, cela peut entraîner de l'amertume. On ne sait pas exactement si cela est aussi valable pour le fromage. Quoiqu'il en soit, on connaît trois peptides amers qui sont libérés de la caséine α_{52} par la plasmine.

Règle d'or:

- Plus la teneur en sel est élevée, plus l'activité protéolytique diminue.
- La dégradation des peptides amers est favorisée par rapport à la formation de nouveaux peptides.
- Risque accru d'amertume dans le cas d'une teneur en sel < 5,0% NaCl dans la phase aqueuse.

5.3 Facteurs d'influence technologiques

Traitement thermique du lait

Différents auteurs indiquent que le fromage à pâte mi-dure à base de lait cru est davantage sujet à l'amertume que le même fromage fabriqué avec du lait pasteurisé. Dans le cas du fromage à pâte dure, c'est exactement le contraire, ce qui indique que les processus à la base de la formation de l'amertume dans le fromage sont très complexes.

Le traitement thermique du lait conduit à l'inactivation de la flore du lait cru, mais augmente l'activité de la plasmine. En interaction avec les paramètres technologiques et les teneurs des fromages à pâte mi-dure et dure, le traitement thermique agit probablement totalement différemment sur l'équilibre entre la formation et la dégradation des peptides amers.

Présures

Des essais effectués avec du fromage stérile (acidification avec du glucono- δ -lactone) ont montré que les enzymes de coagulation contribuent de façon essentielle à la protéolyse primaire de la paracaseïne (fig. 3). Tant la présure d'origine animale que les succédanés d'origine microbienne peuvent contribuer à la formation de peptides amers en libérant elles-mêmes de semblables ou en formant des peptides non amers qui lors d'une étape ultérieure de la protéolyse sont dégradées en peptides amers. Les propriétés des différentes présures sont très importantes (tab. 4 et 5, fig. 4).

Tab. 4: Propriétés des enzymes de coagulations du lait utilisées technologiquement

Enzymes	Protéolyse non spécifique	Substrat privilégié	Thermostabilité
Chymosine	+	caséine α_1	Modérément
Pepsine	++++	Toutes les caséines	Modérément
Protéase <i>R. miehei</i>	++	Cn α_1 und Cn β	(élevé)*
Protéase <i>C. parositica</i>	++++	Cn α_1 und Cn β	Faible

* N'est valable que pour la protéase native et non pour les présures issues de *R. miehei* disponibles aujourd'hui sur le marché.

Tab. 5 a: Propriétés des enzymes de coagulation du lait utilisées technologiquement [6]
Activité résiduelle des enzymes de coagulation dans le caillé (en % de l'activité de la présure ajoutée)

Enzymes	pH 5.2	pH 6.0	pH 6.4
Caillette de veau	83 %	70 %	47 %
Protéase <i>M. pusillus</i>	11 %	12 %	13 %
Protéase <i>R. miehei</i>	19%	19 %	18 %

Tab. 5 b: Propriétés des enzymes de coagulation du lait utilisées technologiquement [6]
Thermostabilité des enzymes de coagulation (activité résiduelle après traitement thermique à 63,3°C/1 min)

Enzyme	pH 5.2	pH 5.6	pH 6.0
Caillette de veau	10 %	4 %	0 %
Protéase <i>M. pusillus</i>	33%	8 %	0 %
Protéase <i>R. miehei</i>	99%	80 %	60%
Protéase <i>C. parositica</i>	3%	2 %	1%

L'action protéolytique des succédanés de présure d'origine microbienne est en général moins spécifique que celle de la chymosine, c'est pourquoi celle-ci est toujours mise en relation avec l'amertume. Ceci est particulièrement vrai pour la protéase de *Cryphonectria parasitica* (par ex. Suparen), qui dans le cas du fromage à pâte molle et à pâte mi-dure provoque, comme on le sait, l'amertume. La protéase n'est donc utilisée dans la fabrication du fromage à pâte dure que là où, en raison de la température de chauffage plus élevée, il y a une inactivation importante de l'enzyme.

En ce qui concerne les présures issues de *Rhizomucor miehei*, disponibles sur le marché, il faut signaler que celles-ci contiennent une protéase épurée et modifiée chimiquement qui est proche de la chymosine du point de vue de la spécificité et de la thermostabilité.

Pour la formation de peptides amers, c'est surtout l'activité résiduelle de la présure dans le fromage qui, en plus de ses propriétés protéolytiques, est déterminante. Comme le montre le tableau 5, les différences entre les diverses présures sont fortement dépendantes du pH.

L'activité résiduelle de l'enzyme de coagulation du lait dans le fromage dépend de:

- la quantité de présure
- la température de chauffage (plus basse dans le cas de températures plus élevées)
- valeur pH au sortir de la cuve (plus élevée dans le cas d'un pH plus bas)
- la courbe du pH dans le fromage (plus élevée dans le cas d'un pH bas)

Quantité de présure

Des quantités plus élevées de présure augmentent le risque de la formation de l'amertume. Cela est particulièrement vrai dans le cas des sortes de fromage avec une température de chauffage basse, étant donné que les enzymes de coagulation sont inactivées dans une plus faible mesure que dans le cas des températures élevées appliquées dans la fabrication de fromage à pâte dure. Plus l'activité résiduelle de la présure est élevée dans le fromage,

plus forte sera la protéolyse en largeur. Dans le cas de la caillette de veau, on trouve ensuite une plus grande quantité de peptides amers dérivés de la caséine α_{s1} .

Culture

En ce qui concerne le développement du goût amer, ce sont les cultures de bactéries lactiques utilisées qui jouent le rôle le plus important. D'une part, elles forment des protéases qui peuvent libérer des peptides amers. D'autre part, elles sont – du moins dans le fromage au lait pasteurisé – la seule source de peptidases qui ont un potentiel de réduction de l'amertume. Les lactocoques sont aujourd'hui les bactéries les mieux étudiées, en particulier en relation avec le goût amer du cheddar.

„les souches amères“ des lactocoques ont les propriétés suivantes:

- Acidification rapide
- Activité faible ou manquante de l'aminopeptidase
- Mauvaise capacité à l'autolyse, c'est-à-dire que les cellules ne libèrent que lentement les exopeptidases localisées à l'intérieur de la cellule.

Les souches avec un potentiel de réduction de l'amertume de *Lc. lactis* ss. *lactis* et de *Lc. lactis* ss. *cremoris* sont aujourd'hui déjà utilisées technologiquement, par exemple comme composants de cultures mésophiles. De même, les préparations enzymatiques «Accelase®» et «Debitrase®» (Danisco) sont des produits de cette recherche. Il s'agit à ce propos d'extraits bruts de lactocoques qui contiennent différentes protéases et aminopeptidases [3].

Les lactobacilles sont moins bien étudiés. Comparé aux lactocoques, ils ont en général une action protéolytique plus forte et une activité de la peptidase plus élevée que les lactocoques. C'est une des raisons pour lesquelles l'amertume apparaît plus rarement lors de l'utilisation de cultures starters thermophiles. C'est en particulier à *Lb. helveticus* que l'on attribue un potentiel de réduction de l'amertume.

Température de chauffage

La température de chauffage peut aussi avoir une influence sur la formation des peptides amers. Wilkinson (citation [4]) constate par exemple que le cheddar fabriqué avec *Lc lactis ss. cremoris* développe un goût amer à une température de 36°C, ce qui n'est pas le cas à 40°C.

La température de chauffage et la durée de brassage influencent la protéolyse de la façon suivante:

1. inactivation partielle des enzymes de coagulation du lait
2. destruction de la flore du lait cru sensible à la chaleur
3. Sélection des organismes de fermentation en faveur de souches résistantes à la chaleur
4. Activation de phages latents, c'est-à-dire induction d'une lyse cellulaire tardive des bactéries lactiques

Comme le montre la figure 6 à l'exemple du Tilsit, une température de brassage plus élevée entraîne dans le Tilsit au lait cru une dégradation sensiblement plus faible de la caséine α_{s1} ; il s'agit d'une conséquence de la forte inactivation des enzymes de la présure lors du chauffage.

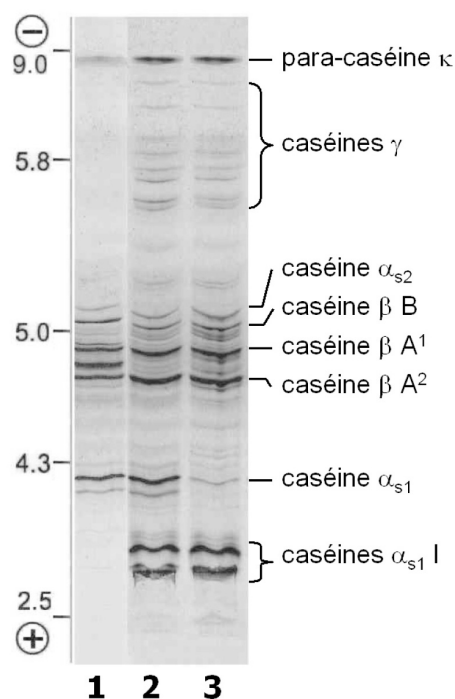


Fig. 6: Electrophérogramme (IEF pH 2.5-9.0) des protéines lactiques dans le lait et le fromage. Bande 1) lait cru traité avec de la présure, 2) Tilsit au lait cru, 3) Tilsit au lait pasteurisé.

Courbe d'acidification et valeur pH dans le fromage

La courbe du pH pendant la fabrication et la maturation du fromage a aussi une grande influence sur la protéolyse, car tant l'activité des enzymes (cf. tab. 3) que l'aptitude à la scission des protéines dépendent du pH. Ci-après les liens les plus importants:

Valeur pH au sortir de la cuve

- Plus la valeur pH est basse au sortir de la cuve, plus grande sera l'activité de la présure dans le fromage (cf. tab. 5)

Valeur pH dans le fromage après 24 h

Une valeur pH plus basse signifie:

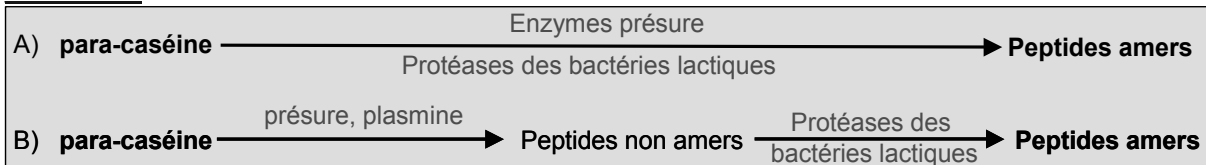
- Hydratation réduite de la caséine -> aptitude à la scission réduite
- Activité accrue des protéases issues de la présure (surtout dans le cas de présures d'origine animale) et de quelques protéases des bactéries lactiques (lactocépines)
- Réduction de l'activité de la plasmine
- Réduction de l'activité de l'aminopeptidase
- Ralentissement de la protéolyse et modification de l'équilibre de la protéolyse (l'amertume s'accompagne souvent d'une intense acidification)

Augmentation du pH pendant la maturation

- Meilleure hydratation des protéines -> scission facilitée par les protéases.
- Augmentation de l'activité de la plasmine (dégradation accélérée de la caséine α_{s2} et de la caséine β)
- Recul de l'activité des protéases acides (enzymes de coagulation et diverses protéases des levains)
- Augmentation de l'activité des aminopeptidases.

Sur la figure 7 sont résumés les processus qui surviennent lors de la formation et de la dégradation des peptides amers de même que les facteurs d'influence les plus importants :

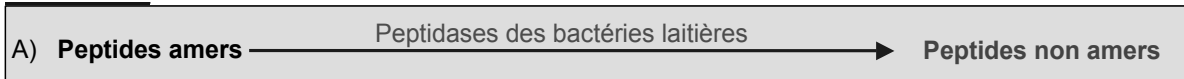
Réaction1



Facteurs d'influence

1. Cultures
 - Système protéolytique des bactéries lactiques
 - Nombre de germes
 - Rapport entre souches d'acidification lente et rapide
 - Quantité de cultures ajoutées
 - Température de chauffage
 - Infection par des phages
2. Présure
 - Sorte de présure (specificité, Thermo-instabilité)
 - Activité résiduelle dans le fromage
 - Température de chauffage
 - Quantité de présure
 - Courbe pH
 - Quantité de cultures
 - Activité de la culture
3. Activité des protéases
 - Teneur en sel du fromage
 - Teneur en eau du fromage
 - Valeur pH dans le fromage
 - Température d'entreposage

Réaction 2



Facteurs d'influence

1. Cultures
 - Système protéolytique des bactéries lactiques
2. Activités des peptidases
 - Teneur en sel du fromage
 - Valeur pH dans le fromage

Fig. 7: Résumé schématique de la formation et la dégradation des peptides amers dans le fromage (d'après Stadhouders & Hup, Neth. Milk Dairy J. 29, 335, 1975)

Autres facteurs d'influence

Ingrédients d'origine végétale

Les plantes peuvent contenir des protéases très fortes. L'utilisation d'épices et d'herbes comme ingrédients du fromage peut donc entraîner une forte amertume. Dans ce cas, il y a lieu d'utiliser des ingrédients traités thermiquement.

Souillures dans le bain de sel

Selon Kammerlehner [4], il faut éviter que le degré d'acidité de la saumure soit trop élevé. Il relate aussi qu'une saumure fortement souillée peut entraîner une forte amertume du fromage. Ce sont probablement les levures avec une forte action protéolytique et les pseudomonades qui en sont responsables.

Fromages à croûte fleurie

Les moisissures sont elles aussi des microorganismes protéolytiques puissants. Dans le cas des fromages à croûte fleurie blanche, l'amertume se manifeste le plus souvent et le plus fortement dans la croûte. On peut éviter cela en utilisant des souches de moisissures avec une activité protéasique plus faible de même que par l'utilisation de *Geotrichum candidum*. L'action positive de *G. candidum* est due à l'activité de ses peptidases et à la valorisation rapide du sucre résiduel. Ce dernier empêche une croissance excessive de *P. camemberti*.

6 Mesures pour lutter contre l'amertume

En raison des liens mentionnés ci-dessus, il est possible d'influencer à divers niveaux le développement de l'amertume dans le fromage. La condition principale pour intervenir de façon ciblée consiste à avoir un processus de fabrication bien standardisé (contrôlé).

En principe, toutes les mesures visent à inhiber l'activité de la protéase (protéolyse primaire) et/ou de favoriser l'activité de la peptidase (protéolyse secondaire).

Niveau d'intervention	Mesure, effet	Influence sur les peptides amers	
		Formation	Dégradation
Qualité du lait	Nombre pas trop élevé de cellules (activité de la plasmine)	x	
	Faible nombre de germes	x	(x)
	entreposage (durée, température)	x	
Emprésurage			
Présure	Proportion élevée de chymosine	x	
Quantité de présure	Réduire par une température d' emprésurage plus élevée	x	(x)
	Réduire par l'abaissement du pH avec du CO ₂ au lieu de culture	x	
Cultures			
Choix de la culture	Culture n'acidifiant pas trop rapidement	x	
	Culture avec une activité de la peptidase modérée	xx	
	Culture avec une activité de la peptidase plus élevée et une bonne aptitude à l'autolyse		xx
Quantité de culture	Réduire la quantité <i>Limiter le nombre de germes des bactéries lactiques</i>	x	x
Ajout d'eau	Augmenter la quantité d'eau <i>Valeur pH plus élevée à 24h</i>	x	x
	<i>Limiter le nombre de germes des bactéries lactiques</i>		
Chauffage	Augmenter la température de chauffage/durée du chauffage	x	x
Sortie de la chaudière	Avec un pH plus élevé	x	
Bain de sel	Augmenter la teneur en sel jusqu'à la limite supérieure	x	xx
Température d'affinage	abaisser	xx	(x)

En cas de problèmes d'amertume, les mesures mentionnées ci-dessus peuvent – éventuellement combinées – entraîner une amélioration. Les fromagers savent cependant que ces mesures peuvent aussi avoir des répercussions sur d'autres propriétés du fromage qu'il ne faudrait pas modifier dans la mesure du possible. C'est pourquoi, il faut appliquer ces mesures avec circonspection et bien surveil-

ler leurs effets. Le cas échéant, il est judicieux de recourir à la consultation fromagère.

7 Méthodes d'analyse des peptides amers

En général, les paramètres suivants sont mesurés pour caractériser la protéolyse:

- Azote hydrosoluble
- Azote soluble à un pH de 4,6
- NPN (azote non protéique)
- Azote aminoacide (valeur OPA)

Ces valeurs donnent des informations sur le rapport entre protéolyse primaire et secondaire, ce qui permet de mettre au jour un déséquilibre apparent. A ce sujet, les fractions azotées fournissent peu d'informations concrètes au sujets concernant les causes de l'amertume.

Des méthodes spécifiques sont utilisées dans la recherche, par exemple la chromatographie en phase liquide et les méthodes de spectrométrie de masse comme la LC-MS. Ces dernières permettent de quantifier et d'identifier les peptides de telle façon que ces parties de caséine peuvent être ordonnées. Ces méthodes sont toutefois trop cher pour les analyses de routine.

La détermination des diverses peptidases pourrait aussi fournir des informations intéressantes pour prévoir le déroulement de la protéolyse. La leucine-aminopeptidase ne donne que peu de renseignement sur le développement de l'amertume. La détermination de l'activité de la peptidase, spécifique à la proline et coresponsable de la dégradation des peptides amers, serait plus intéressante. Toutefois, de telles mesures ne sont pas encore proposées de façon routinière.

8 Perspectives

Augmentation du pH pendant la maturation

Grâce aux techniques de biologie moléculaire et aux méthodes toujours plus performantes de l'analyse des protéines, il est possible désormais de caractériser les microorganismes beaucoup mieux que par le passé. Dans le cas des organismes présents dans les cultures, cela concerne aussi les connaissances au sujet des protéases et peptidases formées. Sur la base de ces connaissances, il est possible dorénavant de sélectionner plus facilement des souches avec certaines propriétés protéolytiques ou d'autres propriétés. On peut donc s'attendre à l'avenir à l'apparition sur le marché de nouvelles cultures particulières, par exemple des cultures avec un potentiel de réduction de l'amertume.

Le génie génétique continuera à progresser et l'on arrivera un jour à modifier génétiquement les organismes des cultures de sorte à former par exemple des peptidases qui s'avéreront très efficaces dans la dégradation des peptides amers. De tels microorganismes modifiés génétiquement peuvent aussi être utilisés pour obtenir des enzymes. L'avenir dira si ces produits arriveront à s'imposer sur le marché. ALP et les interprofessions suisses se déclarent toutefois en faveur d'une production fromagère exempte d'OGM.

9 Résumé

La protéolyse dans le fromage est un processus très complexe, caractérisé par l'interaction entre les protéases natives du lait, les enzymes de coagulation de même que les protéases et les peptidases synthétisées par les bactéries lactiques. Les différentes étapes de production comme le chauffage, le saumurage, etc., influencent sensiblement ces interactions; il en va de même de la présure, du choix de la culture et de la qualité du lait cru. Un fromage amer est la conséquence d'un déséquilibre entre la formation des peptides amers au cours de la protéolyse en largeur et la dégradation de ces peptides par les peptidases des bactéries lactiques. Les mesures pour lutter contre l'amertume doivent viser à favoriser l'activité de la peptidase qui possède un certain potentiel de réduction de l'amertume et à contrôler la protéolyse en largeur. En raison de la complexité des processus, il n'y a pas de recette miracle, mais une multitude de possibilités d'intervention. Il y a toutefois lieu de les tester avec prudence.

10 Sources

1. Anon.: Das schmeckt mir aber. Informationschrift des Bundesverbandes der Betriebskrankenkassen (éditeur), BKK Bundesverband, D-45128 Essen. (2005)
2. Fox PF, McSweeney P, Cogan T, Guinee T (éditeurs): Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, 3rd Edition. Vol. 1, General Aspects. Elsevier Publishers, London (2004)
3. Habibi-Najafi MB, Lee BH: Bitterness in cheese. A review. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 36 (5): 397-411 (1996)
4. Kammerlehner J: Käsetechnologie. Verlag Freisinger Künstlerpresse, Freising (D). (2003)
5. Singh TK, Drake MA, Cadwallader KR: Flavor of Cheddar Cheese. A Chemical and Sensory Perspective. Compreh. Rev. Food Sci. Food Safety. 2, 139-162 (2003)
6. Eck A, Gillis JC (éditeurs): Cheesemaking. From science to quality assurance. 2nd Ed., Intercept Ltd Andover, UK (2000)

En raison du caractère vulgarisateur du thème, nous avons sciemment décidé de renoncer à citer la littérature primaire et avons mentionné uniquement certains articles et ouvrages de référence de la littérature en matière d'économie laitière.