

Caractérisation physico-chimique des fromages : application à l'Emmental Français

(Résumé de l'intervention de M SCHMITT – ITFF - lors de l'Assemblée générale 2001 de CECALAIT)

L'emmental est au cœur d'un marché considérable où se multiplient échanges et produits transformés. Il s'ensuit le besoin d'identifier et de caractériser ce fromage, parmi les autres fromages à pâte dure.

Les différents travaux, anciens et plus récents sur cette question ont recherché des critères discriminants entre ces fromages :

- d'une part en caractérisant les fromages par des méthodes classiques (ES, azote, MG, calcium, AGV...)
- d'autre part en suivant la protéolyse par étude des fractions protéiques par électrophorèse (PAGE) des caséines, d'une part et par CLHP pour les peptides hydrosolubles, d'autre part.

Les résultats ont montré que selon les fromages, certains se distinguent de l'emmental par de nombreux critères, d'autres ne s'en distinguent que par un ou deux critères (teneur en calcium, rapport entre fractions de la caséine $-\alpha_{S1}/\beta-$), d'autres enfin sont très proches de l'emmental et nécessitent une approche multiparamétrique pour pouvoir en être distingués. Au total cependant, les tentatives de constitution de bases de données à partir de ces résultats ont permis d'individualiser les fromages de façon nette et sans exception.

Des travaux complémentaires ont pour objectif de pouvoir reconnaître les fromages fondus fabriqués totalement ou partiellement à partir d'emmental, une analyse indispensable dans le cadre du contrôle de certaines transactions commerciales.

Enfin, des travaux similaires, mais de plus grande ampleur visent à une caractérisation physico-chimique complète de l'emmental français et des emmentals étrangers. Ils devraient aboutir à proposer une "définition" internationale de ces fromages lors des négociations CODEX autour de la norme C9, permettant notamment de les séparer clairement des fromages de type Maasdam.

L'emmental est un poids lourd de la production et de la consommation de fromage en France. Mais c'est également un produit banalisé, présent sur les linéaires sous des formes très diversifiées. Le besoin de l'identifier et de le caractériser, parmi les autres fromages à pâte dure, se fait donc sentir depuis plusieurs années, aussi bien dans un contexte technique que réglementaire. Pour y répondre, il a fallu utiliser à la fois, des méthodes "classiques" pour la détermination de la composition d'un fromage, mais aussi des outils plus "fins" : électrophorèse et CLHP pour l'exploration de la fraction protéique.

Une importance économique considérable.

L'emmental, pâte pressée cuite, est le plus gros des fromages français, tant par sa taille individuelle (jusqu'à 75 kg) que par le volume produit, à savoir 240 000 t en 2000, ce qui représente plus de 12% de la collecte de lait et plus de 24% de la production française de fromages affinés. Très fréquent en restauration collective et industrielle pour ses aptitudes culinaires, il est également utilisé par près de 95% des consommateurs, aussi bien en l'état que pour la cuisine et représente 1% du chiffre d'affaire alimentaire des grandes et moyennes surfaces, sous des marques et des présentations très diverses. L'importance de ce marché national et international pour un produit qui est souvent transformé ou se présente, en tout cas, sous de multiples aspects en explique et en justifie les besoins d'identification et de caractérisation. La composition de l'emmental a donc été explorée en détail, aussi bien pour ses composants majeurs, que pour ses fractions protéiques, dans le but de constituer une base de données sur ce produit.

Les travaux pour ce faire ont été engagés depuis plusieurs années au LARF, laboratoire d'analyse alimentaire et de recherche fromagère de l'ITFF, anciennement ITG, et se poursuivent encore. Ils se déclinent selon trois volets différents, mais liés :

- la caractérisation de l'emmental parmi d'autres fromages à pâte dure,
- la caractérisation de l'emmental dans les fromages fondus,
- la définition de l'emmental au sein du Codex.

Emmental et autres fromages à pâte dure

Dans le cadre du développement du marché de l'emmental transformé, principalement sous forme de râpé, l'objectif était de mettre en évidence les caractéristiques de l'emmental au sein d'un ensemble de fromages voisins, pouvant être confondus avec lui, notamment sous forme de râpé, à savoir d'autres fromages à pâte dure. Les caractéristiques d'un grand nombre de ces fromages ont donc été étudiées et comparées afin de constituer une base de données, où des critères discriminants pourraient se faire jour.

A l'exception de premiers travaux de l'ITG sur 4 fromages différents du commerce (Emmental, Gouda, Leerdammer, Raclette), il y avait jusqu'alors peu d'études caractérisant des fromages différents et la plupart de celles entreprises sur un seul fromage n'avaient concerné qu'un faible nombre d'échantillons.

➤ LES METHODES DE CARACTERISATION

Ces premiers travaux ont donc été repris et complétés. Ils ont été effectués à la fois sur des échantillons d'emmental français prélevés dans des fromageries, au process de fabrication, relativement bien maîtrisé et sur des fromages du commerce, où la seule information disponible était fournie par l'étiquetage. Leur caractérisation s'est faite :

- d'une part, par des méthodes physico-chimiques classiques visant à déterminer l'extrait sec (ES), la matière grasse (MG), les teneurs en azote, calcium, sel...et aussi en acides gras volatils (AGV)....

- d'autre part, en étudiant de façon plus fine la fraction protéique.

En effet, *a priori*, tout ce qui a de l'importance dans les différentes étapes de fabrication d'un fromage, à savoir la qualité du lait d'origine, la technologie de fabrication et l'affinage, a un impact sur son niveau de protéolyse. Deux types d'analyse complémentaires ont été choisis pour suivre ce processus. Il s'agit, d'abord de l'étude des fragments protéiques de taille encore assez importante (> 10 000 daltons) obtenus à l'issue de la protéolyse primaire, puis, pour les étapes ultérieures, c'est l'étude de la fraction peptidique hydrosoluble qui a été choisie, parmi les produits de dégradation obtenus.

- La protéolyse primaire a ainsi été suivie par électrophorèse des caséines sur gel de polyacrylamide agarose (PAGE), sous différentes conditions. L'apparition des produits de dégradation des différentes caséines au cours de la protéolyse peut ainsi être mise en évidence et ils peuvent être quantifiés par densitométrie et/ou analyse d'image.

NB : A noter que cette technique permet également de repérer les ajouts de protéines sériques.

- le profil de la fraction peptidique hydrosoluble du fromage - qui ne représente qu'une partie des produits de protéolyse - a été obtenu selon une méthode de chromatographie liquide haute performance (CLHP), à phase inversée, développée au LARF, qui permet à la fois leur identification et leur quantification.

Dans un premier temps, un grand nombre d'emmentals français ont été ainsi analysés, afin d'obtenir un ensemble de profils peptidiques, censés prendre en compte toute leur diversité présumée, liée à leur origine géographique, à leur mode de production, semi-artisanal ou industriel, à la saisonnalité...

La figure 1 donne l'exemple d'un profil ainsi obtenu. (Elle est extraite de l'article de CHOPARD M.A., SCHMITT M., PERREARD E. et J.F CHAMBA : Aspect qualitatif de l'activité protéolytique des lactobacilles thermophiles utilisés en fabrication de fromages à pâte pressée cuite. Lait, 2001, V. 81, p. 183-194).

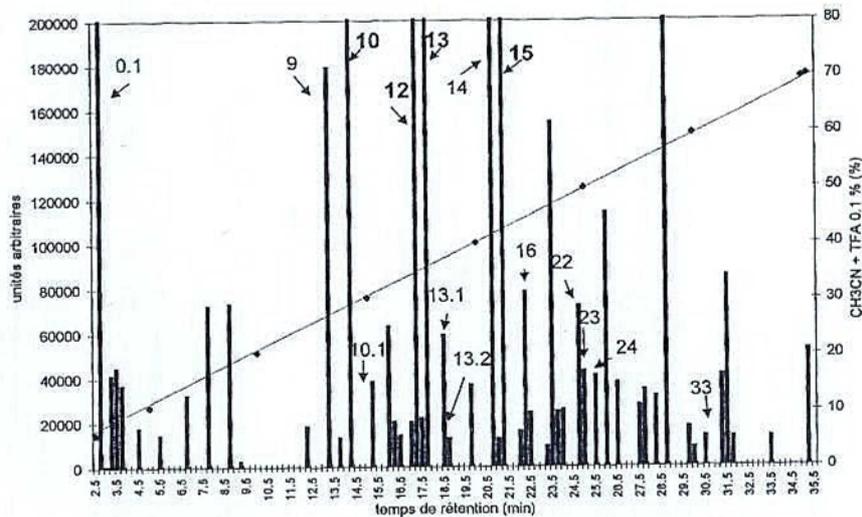


Fig 1 : Représentation schématique du profil peptidique moyen de la fraction hydrosoluble de l'Emmental Français (n=253)

➤ CRITERES DISCRIMINANTS

Les résultats obtenus à l'issue de l'analyse de nombreux fromages à pâte dure et de nombreux emmentals français, par les méthodes citées ci-dessus -sauf la CLPH- ont été regroupés et examinés afin de pouvoir caractériser les différents types de fromages..

Certains critères déjà retenus dans les référentiels de définition des emmentals s'y sont effectivement révélés comme critères discriminants. C'est notamment le cas pour le critère "extrait sec (ES), l'un des deux critères analytiques, de base, définissant actuellement l'emmental, à savoir :

extrait sec ≥ 60% et "gras/sec" ≥ 45% .

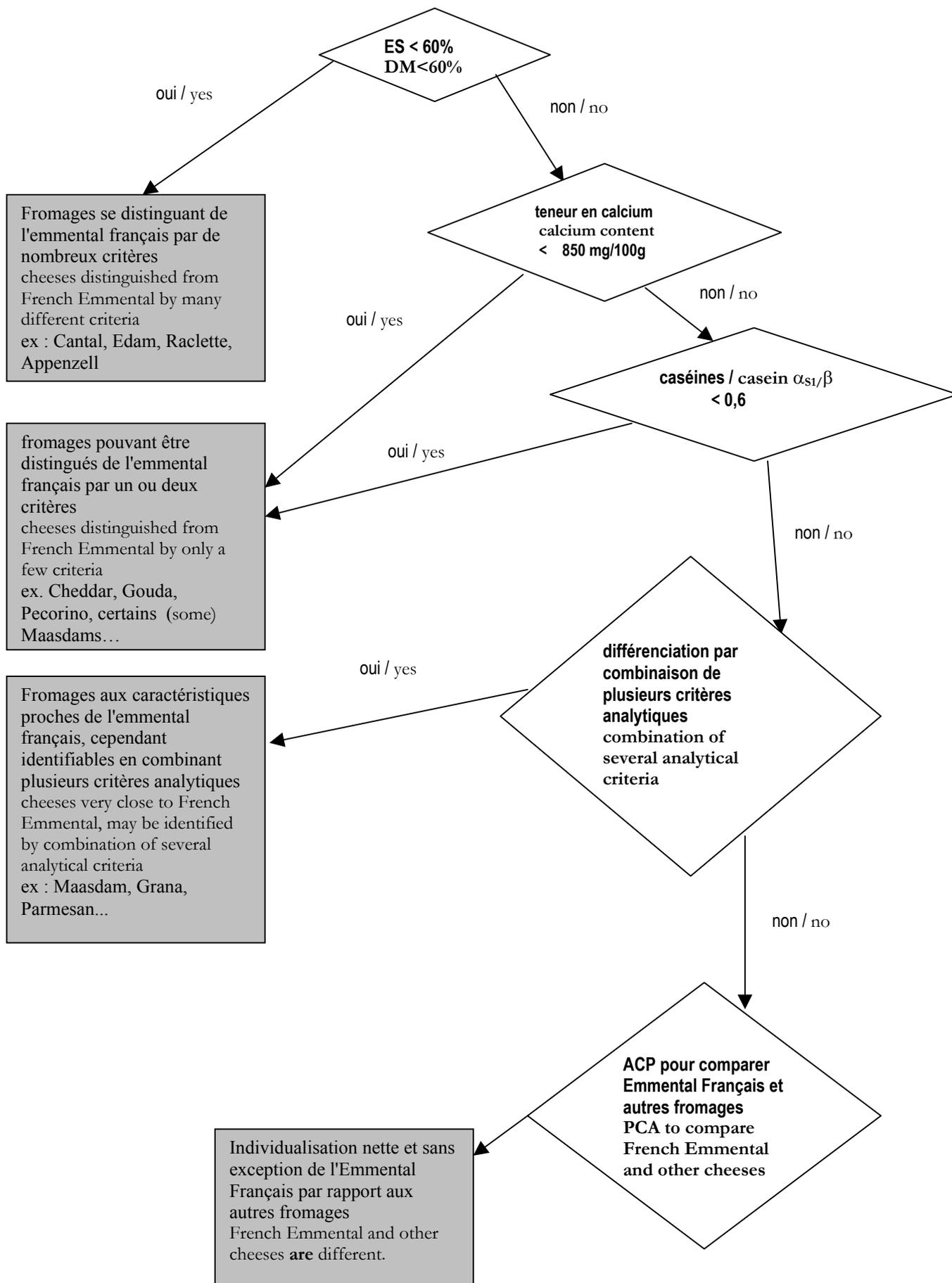
De même, deux des critères importants définis d'après le référentiel de "l'Emmental Français Sélection", construit par la profession, ont été mis en évidence comme critères discriminants. Il s'agit de la teneur en calcium et du rapport entre caséines α_{S1} et β . Le référentiel stipule ainsi :

- **teneur en calcium > 850 mg/100 g de fromage.**
- **rapport caséines α_{S1}/β > 0,6.**

En revanche, l'utilisation du critère de la fermentation propionique, pourtant considéré comme important dans l'emmental, n'a pas été nécessaire ici.

Au final, les pâtes dures, susceptibles d'être confondues avec l'emmental, peuvent ainsi être réparties en plusieurs grands groupes, selon la démarche schématisée ci après (Fig. 2).

Fig. 2 : recherche de critères discriminants dans des fromages à pâte dure, selon les travaux de l'ITFF
discriminating criteria among hard cheeses in ITFF studies



On y constate qu'un certain nombre de fromages ont des caractéristiques très proches de l'emmental et sont d'identification réellement difficile. Pour ceux-ci, l'ensemble des critères analytiques disponibles, sauf les profils peptidiques, ont fait l'objet d'une analyse statistique multi-dimensionnelle : analyse en composantes principales (ACP). La même démarche a été suivie pour les emmentals français. Au bout du compte, cette démarche a mis en évidence le caractère homogène de cette population, clairement distincte des autres produits, même proches.

En conclusion, la constitution d'une importante base de données avec des résultats de nombreux essais sur des fromages à pâte dure et des emmentals français et l'utilisation d'une analyse multi-dimensionnelle ont permis d'individualiser les fromages de façon nette et sans exception.

En outre, des travaux préliminaires se sont également appuyés sur les profils peptidiques obtenus par CLPH des emmentals français et d'autres pâtes dures aux caractéristiques très proches, dont des Maasdams. Ils ont permis de mettre en évidence des profils caractéristiques, par simple observation, dans un premier temps, des pics majeurs.

➤ CARACTERISATION DE L'EMMENTAL DANS LES FROMAGES FONDUS

Il s'agit d'un cas particulier de la démarche de caractérisation, rendu nécessaire dans le cadre du contrôle de certaines transactions commerciales. En effet, les accords du GATT prévoyaient des droits d'importation à taux réduit sur les fromages fondus, fabriqués à partir d'Emmental. Mais, il n'existe, à l'heure actuelle, aucun moyen de contrôler si c'est cette matière première qui a été utilisée ou non pour fabriquer le fromage fondu ! La profession a donc demandé au LARF d'engager des travaux visant à y mettre en évidence la présence ou l'absence d'Emmental afin de fournir au laboratoire central des Douanes des éléments permettant de développer une méthode de contrôle.

Pour savoir si le processus de "fonte" modifie les caractéristiques des fromages, il fallait disposer de fromages fondus aux matières premières bien caractérisées, puis les soumettre aux méthodes de caractérisation citées ci-dessus, ie "physico-chimie", électrophorèse des caséines et CLHP de la fraction peptidique hydrosoluble.

Des fromages fondus pilotes ont donc été fabriqués, à partir de différents mélanges de Cheddar et d'Emmental Français, selon un processus volontairement très dénaturant (notamment du point de vue thermique).

Les fabrications ont été réalisées à l'ENIL de Mamirolle dans les conditions suivantes : pilote ST EPHAN 24 kg, 300 à 3000 rpm, 118°C maximum. Elles ont donné des fromages fondus simples, à savoir, fabriqués uniquement à partir de matière première fromagère, de beurre pour la standardisation en matière grasse, de sels de fonte et d'eau. Les conditions de fabrication devaient aboutir à un ES assez proche de 50%. 4 types de matières premières fromagères ont été utilisées, à savoir :

- Emmental uniquement : fromage fondu, dénommé ci-dessous 100E,
- Cheddar uniquement : fromage fondu, dénommé ci-dessous 100C,
- mélanges Emmental - Cheddar, dans les proportions 75% Emmental, 25% Cheddar et vice-versa, dénommés ci-dessous : fromage fondu 75E, respectivement 75C.

Le tableau 1 donne quelques unes des principales caractéristiques de composition déterminées dans les matières premières utilisées (au même stade d'affinage) et dans les fromages fondus ainsi fabriqués.

tableau 1 : caractérisation des fabrications de fromages fondus et de leurs matières premières fromagères

table 1 : characterization of the pilot processed cheese and of the raw material used.

	ES %	G/S %	NS/NT	$\alpha_{S1/\beta}$	calcium mg/100g
Emmental	63,85	47,77	0,18	0,95	1025
Cheddar	60,95	53,16	0,15	0,40	800
100E	42,04	49,95	0,18	0,95	nd
100C	45,09	49,9	0,14	0,40	nd
75E	44,66	49,98	0,17	0,70	nd
75C	44,97	49,81	0,16	0,45	nd

nd : non déterminé / not determined

ES : extrait sec / dry matter

G/S : gras/sec / fat/dry matter

NS/NT : azote soluble/azote total /soluble nitrogen/total nitrogen

Ces résultats montrent que les caractéristiques marquantes de composition de l'Emmental et du Cheddar d'origine, notamment le rapport caséines $\alpha_{S1/\beta}$, se retrouvent bien dans les fromages fondus 100E et 100C.

En revanche, dans les fromages fondus de mélanges, les valeurs obtenues sont des intermédiaires entre les valeurs d'origine des matières premières.

De même, dans les profils de peptides hydrosolubles, obtenus par CLHP, les pics particuliers, correspondant aux deux types de fromages matière première se retrouvent dans les fabrications qui en sont issues. Ainsi, **les mêmes pics, aux mêmes temps de rétention**, s'observent dans l'Emmental matière première et dans les fromages fondus contenant de l'Emmental. L'analyse comparée des surfaces des pics caractéristiques peut, en outre, permettre de retrouver les proportions du mélange initial.

En conclusion, les possibilités d'identification des fondus obtenues dans ce cas simple sont encourageantes. Essayer d'appliquer ces méthodes à des produits fromagers plus complexes (autres processus de fabrication, présence d'additifs protéiques...etc...) pourrait donc être envisagé.

➤ DEFINITION DE L'EMMENTAL FRANCAIS

Les besoins de caractérisation des fromages se font également sentir dans le cadre des négociations du Codex sur la norme C9 définissant l'Emmental. Les pays producteurs "traditionnels" d'Emmental et les "nouveaux" producteurs d'Emmental ou de Maasdam y sont en conflit, notamment autour d'allègements souhaités par ceux-ci dans les nombreuses spécifications actuelles de l'Emmental.

Pour justifier l'importance des points qu'ils défendent, les professionnels français (SIGF) doivent pouvoir s'appuyer sur une caractérisation complète de leurs produits, mais aussi des produits similaires et/ou concurrents.

Pour mémoire, le SIGF s'attache, entre autres, aux spécifications suivantes :

- durée minimale d'affinage
- interdiction du délactosage
- interdiction de l'ajout d'enzymes d'affinage
- définition de la forme, de la taille et du poids dans la norme
- température de chauffage du caillé $\geq 50^{\circ}\text{C}$
- présence de trous

Pour répondre à la demande de la profession, l'ITFF a donc entrepris de nouveaux travaux de caractérisation pour compléter les résultats déjà obtenus sur les Emmentals Français.

Il s'agit :

- d'analyser des emmentals d'origine étrangère pour aboutir à leur caractérisation physico-chimique complète et la comparer à ce qui a été obtenu pour les emmentals français.
- de procéder de même à la caractérisation physico-chimique complète des Maasdams, dans le but de définir un référentiel pour ce type de fromage
- de caractériser complètement, enfin, des fabrications expérimentales, où la taille et/ou la température de chauffage du caillé diffèrent sensiblement des spécifications françaises actuelles.

Ces travaux sont pour la plupart encore en cours. Par rapport aux Emmentals d'autre provenance ou aux Maasdams, certains

critères définis plus haut semblent encore applicables ; d'autres devront sans doute être revus....Quoi qu'il en soit, l'objectif reste d'aboutir à une proposition de "définition" internationale des Emmental lors des négociations CODEX autour de la norme C9, permettant notamment de les séparer clairement des fromages de type Maasdam.

En conclusion

La caractérisation physico-chimique des fromages de type pâte dure, dont les emmentals est une entreprise longue et semée d'embûches...Elle est cependant fondamentale pour garantir la loyauté des échanges commerciaux pour ces produits. Elle implique le plus souvent la création de banques de données sur la composition physico-chimique, même très fine, de ces fromages et l'utilisation d'analyses statistiques multi-paramétriques pour séparer les familles proches, mais néanmoins différentes.

Abréviations

ACP : Analyse en composantes principales = PCA : principal components analysis

AGV : acides gras volatils = volatil fatty acids

CLHP : chromatographie liquide à haute performance = HPLC : high performance liquid chromatography

ES : extrait sec = dry matter

G/S : gras/sec = fat/dry matter

GATT : General Agreement on Tariffs and Trade, (*devenu OMC, now WTO*)

ITFF : Institut Technique Français des Fromages (*anciennement ITG*)

ITG : Institut Technique du Gruyère

LARF : Laboratoire d'Analyse Alimentaire et de Recherche Fromagère

MG : matière grasse = fat

NS : azote soluble = soluble nitrogen

NT : azote total = total nitrogen

PAGE : polyacrylamide agar gel electrophoresis

SIGF : Syndicat Interprofessionnel du Gruyère Français

Bibliographie

♦ **CHOPARD M.A., SCHMITT M., PERREARD E. et CHAMBA J.F.** Aspect qualitatif de l'activité protéolytique des lactobacilles thermophiles utilisés en fabrication de fromages à pâte pressée cuite. Lait, 2001, V. 81, p. 183-194