



**HAL**  
open science

**Compte rendu final du contrat de prestation  
N°30000221 entre la Société Bongrain-Gérard et l'INRA  
(UMR-STLO) “ défauts de croute de fromages UF ”**

Marie-Hélène Famelart, Eric Beaucher, Michel Piot, Jean-Yves Gassi

► **To cite this version:**

Marie-Hélène Famelart, Eric Beaucher, Michel Piot, Jean-Yves Gassi. Compte rendu final du contrat de prestation N°30000221 entre la Société Bongrain-Gérard et l'INRA (UMR-STLO) “ défauts de croute de fromages UF ”. [Rapport Technique] N°30000221, Société Bongrain-Gérard. 2008. hal-02198134

**HAL Id: hal-02198134**

**<https://hal.science/hal-02198134>**

Submitted on 30 Jul 2019

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# **Compte rendu final du contrat de prestation N°30000221 entre la Société Bongrain-Gérard et l'INRA (UMR-STLO) « défauts de croûte de fromages UF »**

**Famelart M.H., Beaucher E., Piot M., Gassi J.Y.  
Analyses de Maéva Le Poullenec (Juin-Décembre 2007)**

## **1. Contexte**

Au cours d'un travail précédent en collaboration avec les fromageries Tessier et la Soredab, (travail réalisé par le chercheur John Hannon, régulièrement cité dans ce rapport), nous avons montré qu'une couche minéralisée composée de phosphate de Ca se formait sous la croûte des fromages type Gémont leicht (fromage allégé obtenu par technologie UF) entre 2 et 25 jours d'affinage.

Cette couche pourrait être à l'origine d'une barrière de diffusion pour des solutés comme le lactate, entre le cœur et la croûte du fromage. Ce ralentissement de la diffusion du lactate pourrait entraîner une modification de la croissance des moisissures qui entrainerait le défaut des croûtes de fromage (croûtes cartonneuses et dures). Nous avons montré qu'une pulvérisation de lactate de potassium réduisait sensiblement le défaut. Dans le présent projet, il était prévu dans un premier temps d'optimiser la pulvérisation du lactate de potassium puis de tester dans un deuxième temps d'autres voies d'amélioration de la croûte des matrices fromagères.

## **2. Programme**

Le programme simplifié initial était :

- 1- optimisation de la pulvérisation du lactate: quantités pulvérisées et moment de la pulvérisation (J+2 - J+5).
- 2- Modification de la formation de la barrière minérale (en modifiant les pH surface et sous-croûte)
- 3- Réduction de la teneur en phosphate de calcium à l'origine de la barrière minérale

Nous avons réalisé l'essai 1 qui était prévu dans le programme. Une modification technologique (voir plus loin) était apparue dans la fabrication des fromages à l'automne 2006 qui nous a obligé à revoir le programme.

Le compte rendu présente les résultats des essais suivants :

- 1- Essai 1 : optimisation de la pulvérisation du lactate: quantités pulvérisées et moment de la pulvérisation (J+2 - J+5) (3 fabrications Numéro 186, 193 et 200).
- 2- Essai 2 : fabrications de fromages à pH de démoulage plus élevés (pH de démoulage théorique 5.15 et pH de démoulage réel 5.35-5.47), tel avant l'automne 2006 (2 fabrications numéro 263 et 277)
- 3- Essai 3 : manip préliminaire de modification du pH des fromages vers des pH alcalins (pH 8) (1 essai)
- 4- Essai 4 : modification du pH des fromages vers des pH acides (2 essais)
- 5- Essai 5 : modification du pH à 2.39 en présence d'acide lactique (1 essai)

### 3. Matériel et méthodes

#### 3.1. Echantillons

Analyses sur 3 zones (croûte ; sous-croûte ; cœur)

J+4 – J+9 (av emb.)– J+11 (ap emb.) – J+25 (ou J+24 ou J+23 selon les fab)

#### 3.2. Ions

- Cations (Ca, Na, K, Mg, spectro) : 3 g fromage broyé + ac. Nitrique 0.02M, 40°C-30 min, ultraturax, centrif, surnageant filtré sur 0.45 µm, congélation, dilution adéquate. Deux prélèvements et une dilution par prélèvement, une seule analyse en spectro d'absorption par dilution. Un résultat est la moyenne de 2 analyses par zone de fromage.

- Anions (chromato ionique lactate, acétate, phosphates, chlorures) : idem. Un prélèvement et une dilution par prélèvement et 2 injections par dilution. Un résultat est la moyenne de 2 analyses par zone de fromage.

#### 3.3. Extrait sec

2.5 g (sous croûte, cœur) ou 1g (croûte) fromage broyé dans coupelles avec sable. Deux mesures par zone de fromage.

#### 3.4. pH :

4 mesures dans TPS rempli de fromage broyé.

#### 3.5. Rhéologie

Enfoncement d'une tige de 4 mm de diamètre sur 12 mm de profondeur. Mesures sur ½ fromage avec croûte et ½ fromage écrouté. Calculs : moy. sur 1 fromage avec croûte – moy. sur 1 fromage sans croûte, répété sur environ 3 fromages à J+25 (ou J+24 ou J+23 selon les fab).

#### 3.6. Ergostérol

Prélèvement carottes à l'UMR (2 carottes par fromage, sur 3 fromages différents et congélation à J+9 et J+25)

Lyophilisation de toutes les carottes congelées et envois à Soredab.

Suivi ergostérol à Soredab à J+2, J+3, J+4, J+5, J+9 et J+25

#### 3.7. Aspect fromage

Photos, couleur, coupes à J+25 (ou J+24 ou J+23 selon les fab)

### 4. Les différents essais de l'étude – objectifs, échantillons, résultats et discussions

#### 4.1. Essai 1 - Optimisation de la pulvérisation du lactate: quantités pulvérisées et moment de la pulvérisation (J+2 - J+5)

##### Objectif :

Optimisation de la quantité pulvérisée de lactate de potassium *PURALP* à J+4.

##### Echantillons :

- Fromages non-pulvérisés (témoin)

- Fromages pulvérisés tous en même temps, puis re-essuyés pendant 15-30 min (Pulvé ou P)

- Fromages pulvérisés + : pulvérisés tous en même temps, puis re-essuyés pendant 15-30 min, puis idem (Pulvé + ou P+)

3 fabrications : n°186 (05/07/07), 193 (12/07/07), 200 (19/07/07)

Un changement dans le procédé de fabrication des fromages a eu lieu à partir de l'automne 2006 :

- avant l'automne 2006, les fromages de type pâte molle stabilisée en cours d'acidification étaient démoulés et refroidis à un pH relativement haut (5.15-5.20). Ces fromages sont tels que ceux analysés par John Hannon lors de la prestation précédente entre l'UMR-STLO et les fromageries Tessier, en juillet-Novembre 2004 ;
- après l'automne 2006, les fromages étaient démoulés à un pH plus bas (5.05-5.10). Ce sont les fromages fabriqués actuellement.

Cette modification a été mise en place pour baisser le pH des fromages afin d'obtenir une meilleure protection contre des contaminations et a entraîné une formation de croûtes plus fines et l'apparition d'arômes plus « piquant », « bleu » ou « chèvre » qui plait actuellement.

#### Résultats :

- Les pH au cœur du fromage sont plus bas que ceux mesurés par John (Fig. 1a). Cette observation pourrait s'expliquer par une concentration plus élevée en lactate, à confirmer avec les résultats de lactate.
- L'extrait sec dans la sous-croûte a tendance à être plus faible que lors de l'étude de John Hannon (JH) (Fig. 1b), mais le point de J Hannon après emballage à 42 % d'ES est très curieux, ainsi que la diminution d'ES en cœur entre J4 et J emballage.
- Remarque : la face bombée du fromage qui reste en contact avec le moule lors de l'acidification a un  $a_w$  plus fort que la face exposée à l'air ambiant. Cette différence se traduit par un retard de croissance du *Penicillium* sur la face la plus humide jusqu'à J+7 - J+8. Au cours de l'affinage, cet écart disparaît jusqu'à l'obtention d'une valeur moyenne d' $a_w$  dans la croûte de 0,93-0,94 (sous le *Penicillium*) avant et après l'emballage. Cela peut poser des problèmes du fait que nous n'avons pas différencié ces 2 faces dans nos analyses, surtout pour les temps courts.
- Prise de sel dans les fromages beaucoup plus forte dans tous nos résultats d'analyses comparativement à ceux obtenus par J Hannon (concentration en Na de 7.5 contre 5.5 g/kg en sous croûte; 6-8 contre 4.5 g/kg en cœur soit 31 et 51% d'augmentation, respectivement en sous croûte et en cœur) (Fig. 2, 3). Ce résultat peut probablement être relié à la valeur inférieure du pH de démoulage des fromages actuels. La tendance à l'excès de sel pour ces fromages a été confirmée par Tessier-Bongrain.
- Les concentrations en calcium en sous-croûte sont légèrement plus fortes que celles mesurées par John Hannon (~ 1 g/kg de différence) (Fig. 4). Egalement, davantage de Mg en sous-croûte que chez John (~ 0.1 g/kg de différence) (Fig. 5). On observe les mêmes gradients dans les fromages analysés par J Hannon que dans notre étude, les teneurs sont juste décalées vers le haut. On observe aussi davantage de Mg en cœur que chez John (0.22-0.18 contre 0.17-0.12 g/kg) (Fig. 6), avec les mêmes gradients. On observe également davantage de K dans la croûte et on voit nettement moins la diminution de concentration en K à J+25 comparativement aux valeurs de J Hannon (Fig. 7). On voit bien une augmentation du K dans le fromage (en sous-croûte et cœur) avec la pulvérisation de lactate de potassium (Fig. 8, 9). La différence en K se voit nettement au cœur dès J+4 : le potassium migre extrêmement rapidement, en 1 jour, puisque la pulvérisation a lieu à J+4 et les fromages sont transportés pour être découpés à J+5. Question : avec quel contre-ion migre-t-il ? Lactate ou chlorure ?
- Il semblerait qu'on ait davantage de lactate dans les échantillons en fin d'affinage en sous-croûte et en cœur par rapport aux résultats de J Hannon (Fig. 10). Egalement, davantage de

lactate en début d'affinage en sous-croûte dans les échantillons pulvé + que dans le témoin et davantage de lactate au cœur jusqu'à J+25 dans les échantillons pulvé + que dans le témoin. Mais les différences de teneurs ne sont pas très significatives, car les écart-types sont assez élevés :

Ecart-types moyens concentration lactate (g/kg)	Sous-croûte	cœur
Témoin	0.72 (8.4)	1.02 (9.4)
Pulvé	1.90 (22.5)	0.88 (8.0)
Pulvé+	1.30 (13.6)	1.05 (9.1)

\* entre parenthèse les coefficients de variation en %

- Alors qu'il y a davantage de sodium (et de magnésium) dans nos échantillons par rapport aux fromages analysés par J Hannon, il n'y a pas davantage de chlorure (Fig. 11). Par contre, on ne voit pas de tendance avec la pulvérisation, tellement les données sont peu répétibles d'un essai à l'autre. Les écart-types des dosages de sodium et chlorure sont du même ordre de grandeur, si on les compare en coefficients de variation (écart-type rapporté à la moyenne), soit aux alentours de 10 % :

Ecart-types moyens (g/kg)	Na sous-croûte	Na cœur	Cl sous-croûte	Cl cœur
Témoin	0.79 (10.9)	0.99 (12.8)	0.90 (10.3)	1.27 (13.2)
Pulvé	0.67 (8.9)	0.74 (9.2)	1.47 (17.7)	1.08 (10.8)
Pulvé+	0.63 (8.4)	1.00 (12.4)	0.88 (10.2)	1.02 (10.2)

\* entre parenthèse les coefficients de variation en %

- Peu de tendance concernant les phosphates (Fig. 12). Remarquons que les concentrations de phosphate en sous croûte dans les fromages analysés par J Hannon diminuaient entre J+4 (avant emballage) et J+25. Habituellement, tandis que le pH en surface des fromages augmente au cours de l'affinage, le phosphate de calcium devient insoluble et a tendance à s'accumuler en sous-croûte. Cela conduit à une concentration en phosphate croissante en sous-croûte et décroissante en cœur. Ces résultats de John Hannon sont curieux. Dans nos fromages, nous avons effectivement observé une augmentation de phosphate en sous-croûte et une diminution en cœur, telle que rapportée dans la littérature.
- Concernant l'effet de la pulvérisation (normale ou pulvérisation +), nous n'avons trouvé aucun effet sur les teneurs en cations, sur l'extrait sec et sur le pH autre que la concentration en potassium, compte tenu des écart-types importants sur les 3 fabrications. En conséquence, aucun effet de la pulvérisation sur la dureté de la croûte mesuré par rhéologie n'était observée (Fig. 13).

Les résultats de la Soredab confirment ces résultats : pas d'effet des pulvérisations sur l'épaisseur de la croûte en mesure « pied à coulisse » ou en sensoriel.

#### Discussion :

Il apparaît clairement que le changement dans le procédé de fabrication des fromages ayant eu lieu à l'automne 2006 a entraîné des modifications par rapports aux fromages analysés par John Hannon en juillet-Novembre 2004 :

Depuis le changement technologique de l'automne 2006, les croûtes sont nettement plus fines (20 % de diminution d'épaisseur) et il y a moins de différence entre l'épaisseur de croûte face dessus (face bombée) et face dessous (face plate).

En conséquent, sur ces essais, il a été montré une absence de défauts de croûte. La remonté du pH de démoulage des fromages n'étant pas envisagée, il n'y avait plus de défauts de croûte dans ces fromages et la pulvérisation n'avait plus besoin d'être optimisée (en quantité et en temps) puisqu'elle semblait être devenue inutile, nous avons donc réorienté la suite du travail.

Les analyses et comparaisons avec les résultats de John montrent que les fromages analysés captent davantage de sodium au cours du salage. Cette prise de sel augmentée pourrait s'expliquer par une structure davantage déminéralisée, moins cohésive et plus perméable à la diffusion du NaCl. En effet, à un pH de démoulage des fromages plus bas, les minéraux sont davantage solubilisés dans la pâte fromagère et la structure du réseau pourrait être plus lâche, avec une meilleure diffusion du sel lors du trempage (exemple du Boursault, un produit très acide, qui présente une prise rapide de sel). Une augmentation de la teneur en sodium dans le fromage entraîne une augmentation de la force ionique de celui-ci et une augmentation de la solubilité du phosphate de calcium. Quel est l'effet du sel sur la croissance de *Penicillium* ? L'augmentation des teneurs en sel entraîne une diminution de l' $a_w$ , or *Penicillium* n'aime pas trop l'humidité. Il faut noter que les analyses de sodium de cette étude et celles réalisées par J Hannon sont toutes réalisées par chromatographie ionique et non par chloruremètre. La technique de filtration de la saumure (anciennement par diatomées) a changé, mais a priori ne semble pas être la cause de cette augmentation.

Il y a davantage de calcium en sous-croûte que dans les fromages de John Hannon (~ 1 g/kg de différence). Ce résultat est sûrement lié au gradient de pH, car il n'y avait pas plus de Ca dans le cœur que pour les fromages de John Hannon.

Le chlorure et le potassium migrent ensemble. Cl/Na dans la croûte > Cl/Na dans la sous-croûte et donc, le Na ne migre pas avec le chlore.

Les mesures de concentration en ergostérol ont montré des allures de courbes et des tendances compatibles avec la croissance de *Penicillium*. Ces premiers résultats laissent penser que cette mesure, par ailleurs un peu lourde (extraction et dosage chromatographique avec étalon interne) est pertinente et sensible quantitativement

#### 4.2. Essai 2 - Fabrications de fromages à pH de démoulage plus élevés, tel avant l'automne 2006 (2 fabrications numéro 263 et 277)

##### Objectifs :

- Reconfirmer qu'avec le procédé de fabrication des fromages d'avant l'automne 2006, dont le pH de démoulage était ~5.15, (contre pH~5.05 aujourd'hui), on avait bien un problème de croûtes épaisses et qu'on peut ré-obtenir ces fromages à défaut.
- Sur ces fromages, vérifier que la pulvérisation de lactate de K atténue le problème
- Comparer les fromages fabriqués aujourd'hui à ceux fabriqués avant l'automne 2006

##### Echantillons :

- témoin démoulé à pH haut (5.15) sans pulvé (« ancien témoin de John ») (témoin)
- témoin démoulé à pH haut (5.15) avec pulvé (« ancien témoin de John avec pulvé ») (pulvé)
- témoin démoulé à pH bas (5.05) sans pulvé (fabrication actuelle mais sans pulvérisation) (standard)

Pulvérisation de lactate de potassium *PURALP* à J+4

Deux fabrications, 263 (pH blocage 5.35) et 277 (pH blocage 5.47)

Ces essais permettront de prévoir une solution en cas de retour à l'ancien procédé et de vérifier l'effet de la diminution de 0.1 unités pH sur les gradients et la composition des fromages. Cette modification de pH des fromages constitue d'ailleurs une solution pour réduire les problèmes de croûte, mais on n'y avait pas accès à l'époque puisqu'on devait travailler à technologie fixe. Il reste à comprendre en quoi la modification du pH de 0.1 unité au démoulage a réduit l'épaisseur de la croûte. Si le fromage est plus acide, la proportion de phosphate de calcium soluble est plus forte au moment du saumurage. On doit perdre davantage de phosphate de calcium dans la saumure, et il y en aura peut être moins à s'accumuler dans la sous-croûte minérale (mais on n'a pas vu de différence de teneur en calcium de la sous-croûte, en tout cas, pas dans le sens de la diminution). La structure de la pâte est peut être plus lâche suite à la déminéralisation avec des conséquences sur la diffusion de sel ? Une autre hypothèse serait que pour un fromage dont l'égouttage a été bloqué à pH plus haut (comme pour les fabrications d'avant l'automne 2006), le fromage n'est pas resté assez longtemps en phase d'acidification et d'égouttage et n'a pas perdu assez d'eau. Un tel fromage pourra alors perdre de l'eau pendant l'affinage et cela pourra gêner la croissance du penicillium.

### Résultats :

- Il n'a pas été possible d'obtenir des fromages témoins avec des valeurs de pH de démoulage plus élevées que les échantillons standard ou ceux analysés par J Hannon, même en démoulant plus tôt et à un pH plus haut les fromages (Fig. 14 – ce résultat est peu visible avec l'ensemble des courbes mais évident si on trace une seule courbe). Par exemple, les pH de la fabrication 277 témoin sont supérieurs aux pH de la fabrication 263 témoin. Or c'est la fabrication dont l'acidification a été bloquée au pH le plus haut. Il faut dire aussi que les 2 échantillons standards issus des 2 fabrications sont très différents (pH en sous croûte à J+12  $\approx$  6.8 et 6.2, et à J+25  $\approx$  6.9 et 6.6, pH à J+25 en cœur de 5.8 et 5.3). Il n'est pas facile de conclure avec de tels résultats.
- Les fromages ont un ES plus faible en sous croûte et en cœur que lors de l'étude de John Hannon, notamment le témoin (Fig. 15, 16) qui devrait être proche des résultats de J Hannon, mais le point de J Hannon à 42 % d'ES en cœur est très curieux
- Les fromages analysés présentent des teneurs beaucoup plus élevées en sodium que les fromages analysés par J. Hannon en croûte (3 contre 2 g/kg), en sous-croûte (8 contre 5.5 g/kg) et cœur (idem) et cela même dans les fromages démoulés à pH plus haut (Fig. 17, 18 et 19). Le décalage du sodium vers des valeurs plus hautes n'est pas réduit si on exprime les concentrations en sodium par kg d'extrait sec (non montré). En fait, on n'a pas pu distinguer les 3 types d'échantillons de fromages, car on n'a pas réussi à modifier leurs pH.
- Les fromages ont une teneur plus élevée en calcium que les fromages analysés par J. Hannon (Fig. 20, 21). Par contre, démouler un fromage à pH plus haut (comme pour les fabrications témoin et pulvé de cet essai) induit bien une teneur plus forte en calcium en sous-croûte. C'est nettement visible à J12 et J25 sur la figure 20. Lorsqu'on démoule à pH plus bas, le calcium est plus soluble au moment du saumurage et pourrait être davantage perdu dans la saumure. Les résultats sont identiques pour les teneurs en magnésium.
- Les résultats pour le potassium et le lactate divergent pour les 2 fabrications, mais le potassium est plus fort pour l'échantillon pulvérisé.
- Pour la dureté de la croûte, l'échantillon démoulé à pH 5.35 (fabrication 263) a la même dureté de croûte que l'échantillon standard (celui issu de la fabrication actuelle sans pulvérisation) (Fig. 22). Par contre l'échantillon démoulé à un pH plus haut, à 5.47 pour la fabrication 277 a une croûte plus dure que l'échantillon standard, sans que la pulvérisation

n'ait eu d'effet significatif. Il faut savoir que plus le pH du fromage est élevé, plus sa pâte est molle et réciproquement. Ceci est surtout vrai en technologie UF et notamment pour le Geramont Leicht.

- Les mesures d'épaisseur de croûte pour la fabrication 263 (pH de démoulage ~ 5.35) ne montrent aucune différence entre les échantillons. Pour la fabrication 277 (pH de démoulage 5.47), les épaisseurs sont de 2.9 mm dessus et 3.0 mm dessous pour le témoin et de 2.5 mm dessus et 2.3 mm dessous pour l'échantillon pulvérisé. Ceci est en accord avec les conclusions des précédentes études ou la pulvérisation améliorerait les défauts de croûte.

Remarque : Pour le fromage démoulé à pH 5.47, il aurait fallu le tremper dans une saumure à pH 5.47, avec un pouvoir tampon au moins équivalent ou supérieur, car en le trempant à pH 5.2, on a du perdre l'effet delta pH fromage attendu.

En conclusion, on ne parvient pas à retrouver les caractéristiques des fromages avant l'automne 2006. Pourquoi ? La question d'une composition différente des saumures avant et après l'automne 2006 s'est posée. Nous avons analysé la composition des saumures au cours de leur utilisation, c'est-à-dire avant le premier trempage, après ce premier trempage et en fin d'utilisation, afin de suivre son enrichissement en minéraux (sodium, par exemple).

Résultats de composition des saumures pendant 5 jours :

	Na (g/kg)	$\sigma$	K (g/kg)	$\sigma$	Ca (g/kg)	$\sigma$	Mg (g/kg)	$\sigma$
J0 (lundi)	89.85	0.24	0.67	0.01	0.10	0.01	0.033	0.002
J1	80.00	0.07	0.68	0.02	0.10	0.01	0.033	0.003
J2	101.07	0.09	0.74	0.00	0.10	0.01	0.032	0.002
J3	104.28	1.50	0.73	0.01	0.10	0.01	0.032	0.002
J4	100.87	0.57	0.69	0.01	0.09	0.00	0.031	0.002

	Chlorure (g/kg)	$\sigma$	lactate (g/kg)	$\sigma$	Phosphate (g/kg)	$\sigma$
J0 (lundi)	119.2	8.2	3.2	1.3	1.0	0.1
J1	117.1	9.7	3.2	1.2	1.0	0.2
J2	140.0	8.8	2.6	1.6	0.9	0.1
J3	127.9	15.0	2.4	1.4	0.9	0.1
J4	122.6	17.2	2.4	1.3	0.8	0.2

L'évolution au cours du temps est montrée dans les figures 23 et 24. Les teneurs en calcium, magnésium lactate et phosphate semblent diminuer au cours des 5 jours d'utilisation de la saumure, mais l'évolution est peu significative compte tenu de l'écart type élevé. De toute façon, ceci ne nous renseigne pas vraiment sur la composition de la saumure à l'époque des analyses et ne nous permet pas vraiment de comprendre d'où proviennent ces différences de composition des fromages.

#### 4.3. Essai 3 : manip préliminaire de modification du pH des fromages vers des pH alcalins (1 essai)

##### Objectif :

Poursuivre dans la voie de l'alcalinisation pour précipiter le phosphate de calcium en surface à l'aide de saumures enrichies en chlorure d'ammoniaque (ou en lactate ou phosphate) à pH 8 dans le but de poursuivre dans la compréhension du rôle de la précipitation des sels en sous croûte.



### Inconvénients :

Le *Penicillium* risque ne pas pousser à pH en surface plus haut et on s'expose à un double risque de comparer entre eux des fromages avec ou sans *penicillium*, ou avec des fromages couverts d'une flore de contamination indésirable.

Il s'agit tout d'abord d'un essai préliminaire pour déterminer les pH et temps de trempage pour modifier les pH en surface des fromages afin de précipiter le phosphate de calcium en surface et précocement à pH alcalin.

### Protocole :

Trempage dans de l'eau + ammoniacque à pH final 6 et 9 ; temps de trempage 10, 30 et 60 min ; suivi jusqu'à J+4 ;

Un témoin non trempé et trempé dans l'eau 10, 30 et 60 min a été ajouté au dispositif.

### Résultats :

Aucun effet des trempages sur le pH en sous-croûte à J4 (Fig. 25). Ce résultat était prévisible, car sans tampon dans l'eau, c'est la surface du fromage qui pilote le pH de l'eau. On a même l'impression que les pH des fromages sont plus acides, notamment en cœur après un trempage du fromage dans de l'eau + ammoniacque à pH 9 pendant une heure que sans trempage ou avec un trempage dans l'eau. L'ES diminue significativement lorsque le temps de trempage augmente pour les trempages à pH 9 (Fig. 26). Des composants précipités à la surface (par exemple le phosphate de calcium) doivent être re-solubilisés et doivent alors être transférés dans la saumure, ce qui peut expliquer une perte d'extrait sec du fromage observée à J+4. Dans la figure 26bis, on peut voir que, dans le cas du lait, la valeur de pH autour de 5 (5.0-5.2, intervalle des pH mesurés sur ces fromages) va définir la quantité de phosphate de calcium  $\text{CaHPO}_4$  en équilibre avec le sel soluble  $\text{CaH}_2\text{PO}_4^+$ . Si on extrapole ces calculs théoriques au fromage, les concentrations de  $\text{CaH}_2\text{PO}_4^+$  vont être beaucoup plus élevées, car on aura davantage de calcium et que ce sel est soluble, ces équilibres seront déplacés vers des pH plus basiques et on risquera d'être dans la zone de limite de solubilité du  $\text{CaHPO}_4$  dès pH 5, et la concentration à saturation sera plus élevée que 0.6 mM, valeur théorique calculée dans le lait, du fait d'une force ionique bien supérieure.

Le résultat majeur de cette expérimentation est que nous ne sommes pas parvenus à augmenter le pH des fromages par des trempages en saumure alcaline. Compte tenu de ces difficultés et des risques microbiologiques à s'éloigner des pH acides, nous avons décidé de poursuivre ce projet par l'étude de l'évolution des pH de surface vers des valeurs plus acides. L'avantage de la voie acide est de bénéficier de la protection du pH pour l'implantation de la flore (pas de développement de flores pathogènes), et de ne plus gêner la croissance du *Penicillium*.

#### *4.4. Essai 4 : modification du pH des fromages vers des pH acides – essais préliminaires (2 essais)*

##### Objectif :

Vérifier l'hypothèse selon laquelle les défauts de croûte seraient dus à des problèmes d'apports insuffisants de lactate en surface des fromages.

Le but de cet essai est d'apporter du lactate au cours du trempage en saumure en même temps que l'on diminue le pH en surface du fromage. Afin de comparer l'effet du lactate à un autre apport nous avons également trempé les fromages dans des solutions de citrate.

1<sup>er</sup> essai (préliminaire, avec un suivi jusqu'à J+4)

D'après des travaux anciens, la concentration en lactate du Geramont Leicht en sous croûte à J+2  $\approx$  11.4 g/kg de fromage, et si on suppose que le lactate est totalement présent en phase soluble, pour un fromage de 400 g ES/kg, la teneur en lactate peut être estimée à 19 g de lactate/kg de phase aqueuse. On s'est fixé une teneur finale en lactate de 20 g/L dans la saumure (essai LACpréli1) et une concentration molaire équivalente en citrate, soit 35.72 g/L de citrate (essai CITpréli1). La saumure rapportée de Tessier contient  $\approx$  3.25 g/L d'acide lactique (dosage UMR-STLO à la phénolphtaléine). Trois pH sont testés, 4.2, 4.5 et 4.8 que l'on a ajusté par ajout de potasse. Le temps de trempage était constant à 35 min. Les essais correspondent au tableau ci-dessous :

témoin	Trempage en saumure témoin de l'usine → J+4 (pH, ES et cations)	
	Saumure + lactate conc. finale de 20 g/L (LACpréli1)	Saumure + citrate conc. finale de 35.72 g/L (CITpréli1)
pH 4.8	→ J+4 (pH, ES et cations)	→ J+4 (pH, ES et cations)
pH 4.5	«	«
pH 4.2	«	«

### Résultats :

- Aucune acidification en sous croûte et en cœur par rapport au saumurage témoin, au contraire (Fig. 27). Les pH sont plus élevés lors d'un saumurage CITpréli1. Pourrait-on imaginer que le *Penicillium* pousse mieux lors d'un saumurage LACpréli1 ou CITpréli1 et alcalinise plus vite la surface, même si à J+4 sa croissance est très faible. En fait malgré une croissance faible, *penicillium* pourrait avoir un effet sur les croûtes des fromages de part son métabolisme. L'addition de lactate et de citrate dans la saumure peut probablement aussi augmenter la force ionique de la saumure, et une diminution des pK apparents des acides faibles, d'où une réduction de l'ionisation des acides faibles présents dans la saumure et probablement en surface des fromages (acide lactique). Cette réduction d'ionisation peut peut-être expliquer une augmentation du pH des fromages.
- Légère augmentation de l'extrait en sous-croûte, surtout pour CITpréli1, mais sans modification au cœur des fromages (Fig. 28).
- Il existe un gradient entre la sous-croûte et le cœur des fromages pour le sodium et le magnésium, tandis que ce gradient est très faible en calcium et inexistant en potassium (Fig. 29, 30, 31 et 32). La teneur en sodium est plus forte en sous-croûte qu'en cœur à cause de l'apport majeur du sodium en surface. Par contre, la teneur en magnésium est plus faible en sous-croûte qu'en cœur? Le trempage à pH acide semble avoir entraîné une augmentation des teneurs en calcium et en potassium dans la sous-croûte et en cœur. L'augmentation des teneurs en potassium dans la sous-croûte et en cœur était plus significative en présence de citrate qu'en présence de lactate. Les trempages en présence de citrate à pH acide semblent avoir entraîné une réduction des teneurs en magnésium en sous-croûte et cœur (alors qu'une augmentation des teneurs en calcium a plutôt été observée).

En conclusion, le pH en sous croûte et en cœur n'ayant pas été modifié par ces trempages à pH 4.8, 4.5 et 4.2, nous allons ajuster les pH à des valeurs plus basses.

2<sup>ème</sup> essai (préliminaire, avec un suivi jusqu'à J+4)

Echantillons suivants :

témoin	Trempeage en saumure témoin de l'usine → J+4 (pH, ES et cations)	
	Saumure conc. finale en lactate de 20 g/L (LACpréli2)	Saumure conc. finale en citrate de 35.72 g/L (CITpréli2)
pH 2.16	→ J+4 (pH, ES et cations)	→ J+4 (pH, ES et cations)
pH 2.58	«	«
pH 3.00	«	«

#### Résultats :

- Les fromages LACpréli2 et CITpréli2 ont un pH en sous croûte à J+4 plus bas qu'avec le saumurage témoin lorsque le pH de la saumure est ajusté à une valeur inférieure à 2.58 et il semble plus bas avec citrate qu'avec lactate (Fig. 33). Une faible réduction du pH en cœur à J+4 est peut être observée, plutôt en présence de citrate.
- Sur les extraits secs, en sous-croûte, à l'exception de la valeur forte en présence d'acide lactique à pH 2.16 (mesurée avec un écart type important), les échantillons LACpréli2 et CITpréli2 semblent plus faibles en extrait sec que les fromages trempé en saumurage témoin (Fig. 34). Par contre, on ne note pas de modifications de l'extrait sec en cœur du fromage à J+4 (Fig. 35).
- Les teneurs en sodium augmentent avec des valeurs de pH de trempage croissants, surtout en présence de citrate (Fig. 36). L'ensemble des valeurs est un peu plus faible en présence de lactate qu'avec citrate. Plus le pH est bas et plus la prise de sel est limitée surtout en présence de lactate.
- Les valeurs de calcium ne montrent pas de tendance (Fig. 37), tandis que les teneurs en potassium augmentent avec les pH de trempage, et de manière plus significative en présence de citrate (Fig. 38).
- Les valeurs de potassium en sous croûte semblent augmentent un peu avec le trempage LACpréli2 et davantage avec le trempage CITpréli2. Pourtant, si on examine l'effet du pH dans le cas des trempages en présence de lactate ou citrate, les teneurs en potassium augmentent si le pH au moment du trempage augmente (Fig. 38).

En conclusion, le trempage en saumure + lactate ou citrate à pH 2.58-2.16 a permis d'obtenir des fromages présentant des sous-croûte à un pH plus acide que les témoins ayant subi un saumurage témoin. Les tendances ont indiqué une réduction des extraits secs de la sous-croûte, une augmentation de la teneur en potassium dans ces fromages. Au vu de ces résultats, il a été décidé de tester les conditions de saumurage en présence d'acide lactique à pH 2.39.

#### 4.5. Essai 5 : modification du pH à 2.39 en présence d'acide lactique et suivi au cours de l'affinage jusqu'à J+23 (1 essai)(LACacide)

##### Objectif :

Observer ce qui se passe lors de l'affinage du fromage après un trempage en saumure + lactate à pH 2.39 (LACacide).

##### Résultats :

(Les valeurs à J+4 de LACpréli2 à pH 2.16 et 2.58 de la manip préliminaire sont reportées sur les courbes afin de comparer cet essai au précédent)

- Le pH après ressuyage (J+2) en sous-croûte et en cœur est plus bas dans les fromages issus du trempage LACacide que pour les fromages issus du saumurage témoin (Fig. 40, 41 et 42) et tableau suivant :

	sous-croûte	cœur
<b>pH à J+2</b>		
Saumurage témoin	5.09	5.06
Saumurage LACacide pH 2.39	4.92	5.05
<b>pH J+4</b>		
Saumurage témoin	5.03 ± 0.03	4.96 ± 0.00
Saumurage LACacide pH 2.39	4.96 ± 0.01	4.94 ± 0.01

- A J+4, le pH des fromages issus du trempage LACacide est légèrement plus bas qu'avec le saumurage témoin, en sous croûte et en cœur (tableau ci-dessus). Cette observation est en accord avec l'effet observé lors de l'essai préliminaire pour la sous croûte. Par contre, à J+4, les trempages LACpré12 à pH 2.16 et 2.58 avaient entraîné plutôt une augmentation du pH au cœur du fromage. Nous serions tenté de conclure que le pH après trempage en LACacide en sous croûte et en cœur est plus faible qu'avec un saumurage témoin, mais que la différence s'estompe au cours de l'affinage, jusqu'à n'être plus significativement différent à J+23. Par contre, le pH de la croûte est beaucoup plus acide après le saumurage LACacide qu'avec le saumurage témoin. Soulignons toutefois que le prélèvement de cette zone est délicat et qu'une « contamination » même faible par de la sous croûte peut entraîner une forte modification des caractéristiques de la croûte.
- Les extraits secs augmentent significativement dans la croûte (prise de lactate ?) et diminuent dans la sous-croûte avec le trempage LACacide en comparaison du saumurage témoin (Fig. 43, 44 et 45) sauf à J+4. D'ailleurs la tendance à J+4 est différente de celle observée lors de l'essai préliminaire : dans cet essai, l'extrait sec augmente avec le trempage LACacide, tandis qu'il diminuait lors de l'essai préliminaire. Au cœur, le trempage en LACacide entraîne une diminution de l'extrait sec à J+4 et une augmentation au delà de J+4.
- Le saumurage en LACacide diminue la teneur en Na de la sous-croûte et du cœur à J+4 (comme dans l'essai préliminaire) et à J+10 par rapport au saumurage témoin (Fig. 46). On a l'impression que ce trempage réduit la prise de sel. L'acidification de la surface du fromage avec le trempage en LACacide (Fig. 41 et tableau à la page précédente) a pu augmenter la solubilité du phosphate de calcium ou, à l'opposé, diminuer la solubilité des protéines sériques dénaturées lors du traitement thermique (elles ne sont plus solubles à pH acide). Dans la 1<sup>ère</sup> hypothèse, on pourrait imaginer que la solubilisation du phosphate de calcium entraîne une désintégration des premières couches du fromage au contact de la saumure acide. Ceci pourrait entraîner un flux de matière depuis le fromage vers la saumure qui s'opposerait au flux rentrant de sodium. Dans la 2<sup>ème</sup> hypothèse, une précipitation des protéines sériques a pu engendrer la formation d'une sorte de « glaçage » autour du fromage qui agirait comme une barrière de diffusion et gênerait la prise de sel.
- On a une augmentation importante du potassium dans la sous-croûte et en cœur entre J+10 et J+23 avec le trempage en LACacide par rapport au saumurage témoin (Fig. 47). La prise de potassium serait plus importante dans le cas d'un trempage en LACacide, ce qu'on a du mal à expliquer. Une augmentation du K en sous croûte pourrait signifier une meilleure croissance de penicillium mais on ne voit pas de diminution du K en cœur. Peut-être ces résultats sont dus à une meilleure prise de K pendant le saumurage.
- On a moins de calcium en sous croûte avec le trempage LACacide à J+10 et J+23 (Fig. 48) et de la même façon, moins de phosphate en sous croûte (Fig. 52). Ces résultats laissent

penser que l'accumulation de phosphate de calcium dans la sous croute est limité parce que les conditions sont moins favorables à la précipitation du phosphate de calcium dans la sous-crouete. Les rapports Ca/P ( $\text{mol.mol}^{-1}$ ) sont peu différents entre les 2 essais, compte tenu du manque de précision sur le calcul d'un rapport :

Ca/P dans fromage ( $\text{mol.mol}^{-1}$ )	Sous-crouete			Cœur		
	J+4	J+10	J+23	J+4	J+10	J+23
témoin	1.08	0.73	0.7	1.2	1.31	1.61
pH	5.03	5.55	5.92	4.96	4.88	5.04
LACacide	1.29	0.86	1.00	1.18	1.51	1.53
pH	4.96	5.56	6.01	4.94	4.86	5.03

D'après ces calculs, plus le pH augmente et plus le rapport Ca/P diminue (Fig. 53). La micelle de caséine de lait contient environ 20 mM de Ca et 10 mM de P, ce qui donne un rapport molaire colloïdal de 2 mol/mol. Dans le fromage initial, si on néglige les pertes en minéraux solubles lors de l'égouttage/acidification (estimables par des dosages de Ca et P en fin de démoulage), le rapport molaire doit donc être proche de 2. Puis, lorsque le phosphate de calcium précipite, par exemple en surface lors de l'alcalinisation de la sous-crouete due à l'affinage, le rapport doit tendre vers 1-1.2, selon la littérature. Mekmène en 2008 dans des solutions modèles décrit une forme de précipitation proche de la brushite (Ca/P=1) et Holt décrit les nano-cluster de minéraux colloïdaux par une composition complexe avec un rapport Ca/P de 1.11. Donc, au fil de la précipitation, il est normal d'observer un rapport décroissant.

- L'effet sur les teneurs en magnésium n'est pas clair (Fig.49) mais il semble qu'à J+4 on ait moins de magnésium en sous-crouete avec le trempage LACacide. Peut être ce magnésium serait perdu au trempage. Les tendances en magnésium sont proches de celles observées pour le calcium.
- Les teneurs en lactate sont très variables d'une répétition à l'autre (Fig. 50), ce qui donne des écarts types importants et nous empêche de conclure (il y a pourtant 2 injections en chromatographie ionique par échantillon). La concentration en lactate à J23 est plus faible dans le fromage LACacide que dans le fromage témoin et ceci malgré le fait qu'on a ajouté du lactate par le saumurage. Ceci pourrait indiquer une meilleure consommation du lactate ou une meilleure disponibilité dans les fromages LACacide que dans les fromages témoin. Toutefois, il ne s'agit là que d'une tendance.
- On a moins de chlorure aussi avec le trempage LACacide, ce qui est en accord avec une teneur moindre en sodium (Fig. 51).
- Dureté de la croute des fromages LACacide est significativement moindre de celle des fromages témoins (Fig. 54).
- L'aspect des fromages n'était pas modifié par ce trempage comme en témoigne la Fig. 55.

## 5. Conclusion

En conclusion, le trempage en apportant du lactate à pH 2.39 semble être une bonne piste de correction des défauts de croute. L'extrait sec de la sous-crouete des fromages ayant subi ce trempage était significativement réduit, ce que l'on peut probablement assimiler à la moindre teneur en calcium et phosphore dans la sous-crouete. Or, Ca et P sont des minéraux soupçonnés de constituer une « barrière » à la diffusion du lactate. Ces fromages ont présenté une moindre prise de NaCl, mais davantage de potassium, et moins de lactate. Le lactate supplémentaire serait donc mieux consommé dans ces fromages.

Ces résultats mériteraient d'être vérifiés.