Zeitschrift: Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 94 (2003)

Heft: 3

Artikel: Dosage des acides gras libres dans le fromage par chromatographie gaz-liquide : précision de la méthode et différences saisonnières de la lipolyse dans divers fromages suisses

Autor: Collomb, Marius / Malke, Patrick / Spahni, Monika

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-981992

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 08.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Dosage des acides gras libres dans le fromage par chromatographie gaz-liquide : Précision de la méthode et différences saisonnières de la lipolyse dans divers fromages suisses

Marius Collomb, Patrick Malke, Monika Spahni, Robert Sieber et Ueli Bütikofer
Station fédérale de recherches laitières, Berne, Suisse

Reçu 1er mars 2003, accepté 12 mai 2003

Introduction

La lipolyse est, comme la protéolyse et la glycolyse, un phénomène majeur de l'affinage des fromages (1). Il y a essentiellement deux sources d'activité lipolytique. La première provient de la lipoprotéine lipase originelle du lait présente à 1 à 2 mg/l. Selon *Driessen* (2), cet enzyme est cependant thermiquement inactivé à la température de fabrication des fromages à pâte cuite. La seconde source de lipolyse provient de lipases microbiennes (1, 3) telles que celles des bactéries lactiques mésophiles et thermophiles, homo- ou hétérofermentaires, ou des bactéries propioniques. Parmi les bactéries lactiques thermophiles, *Streptococcus thermophilus* exhibe in vitro une activité lipolytique intracellulaire notable alors que les lactobacilles n'ont qu'une faible activité (4, 5). Les activités des bactéries lactiques d'affinage, comme les lactobacilles hétérofermentaires et les pédiocoques sont variables (6, 7, 8). Quant aux bactéries propioniques, elles sont bien connues pour leur activité lipolytique élevée, 10 à 100 fois supérieure à celle des bactéries lactiques (9, 10).

Dans les fromages, la lipolyse est importante en raison des acides gras à courtes chaînes C4 à C10, voire C12 qui ont un impact direct sur les flaveurs (11, 12) mais aussi d'autres acides gras libres (AGL) qui sont les précurseurs de nombreux arômes via l'oxydation bêta (13). Actuellement, elle connaît un regain d'intérêt en raison de l'influence des AGL sur la croissance microbienne dans le fromage (14) ainsi que sur la formation possible d'acides linoléiques conjugués (conjugated linoleic acids, CLA) par diverses bactéries propioniques durant la maturation de l'Emmental (15, 16, 17).

Le dosage des AGL dans le fromage peut être effectué selon diverses méthodes. Une revue des méthodes existantes pour le lait et les produits laitiers a été publiée par *Collomb* et *Spahni* en 1995 (18). Actuellement, le dosage par chromatographie gaz-liquide est le plus souvent effectué selon de *Jong* et *Badings* (19).

Le but du présent travail consiste à déterminer la précision de cette méthode, l'influence de la congélation sur les teneurs en AGL dans le fromage durant l'entreposage des échantillons, la composition en AGL dans divers fromages suisses produits en saisons hivernale et estivale, et finalement l'influence des saisons sur la lipolyse dans le fromage.

Partie expérimentale

Caractéristiques des fromages analysés et plan de l'essai

Le tableau 1 présente les caractéristiques des fromages analysés. Il s'agit de six sortes de fromages prélevés dans les mêmes fromageries en saisons hivernale et estivale. Dans une fromagerie donnée, les mêmes ferments ont été utilisés en hiver et en été. Les cinq fromages par sorte et par saison, au total 60 fromages, ont été analysés à double.

Tableau 1
Caractéristiques des fromages suisses analysés (n=5 par sorte de fromage et saison)

Type de fromage	*Age (mois)*	*Mois de production hiver/été*	*Fromageries (identiques en hiver et en été)*
Emmental	6	Décembre 2000 Juin 2001	Ilfis, Affoltern, Oschwand, Hasle-Dorf, Mutten
Gruyère	6	Décembre 2000 Juin 2001	Billens, Trubschachen, La Roche, Mézières, Esmonts
Sbrinz	12	Mars 2000 Juin 2000	Farnbühl, Walde, Menzberg, Untergass, St. Niklausen
Tilsit	3	Mars 2001 Juin 2001	Tägerschen, Ringwil, Zwieseln, Krümmenswil, Kengelbach
Appenzell	3	Mars 2001 Juin 2001	Dietfurt, Bütschwil, Märwil, Ganterschwil, Riethof
Vacherin fribourgeois	3	Décembre 2000 Juin 2001	Le Moléson, Lurtigen, Arconciel, Schwenny, Maules

Pour déterminer l'influence de la congélation sur la composition en AGL, le fromage a été râpé et les échantillons ont été congelés à –20 °C dans des sachets en plastique de type minigrip.

Réactifs

Acide sulfurique 250 g/kg, éther diéthylique distillé, n-hexane et n-heptane Lichrosolv, sulfate de sodium anhydre pur, 2-propanol Lichrosolv, acide formique 980–1000 g/kg p. a., Merck (Grogg Chemie, Stettlen). Acides butyrique (C4), valérianique (C5), caproïque (C6), heptanoïque (C7), caprylique (C8), caprique (C10), laurique (C12), tridécanoïque (C13), myristique (C14), palmitique (C16) et oléique (C18:1 cis 9), Merck (Grogg Chemie, Stettlen).

Standards internes et solution de calibrage

Solution de standards internes (SI): On pèse 0,1 g de C5, 0,1 g de C7 et 0,5 g de C13 dans un ballon jaugé de 100 ml qu'on ajuste à 100 ml à l'aide d'heptane puis qu'on dilue à 1:20 avec le même solvant. La solution de ces SI non diluée est utilisée lors du calibrage et la solution diluée lors du dosage des AGL.

Solution de calibrage : on pèse exactement 1 g d'AGL C4, 1 g de C6, 1 g de C8, 1 g de C10, 1 g de C12, 3 g de C14, 8 g de C16, 3 g de C18 et 6 g de C18:1 cis 9 dans un ballon jaugé de 200 ml qu'on complète avec de l'heptane.

Appareillage

Armoire à sécher, environ 50 °C. Balance de précision, résolution 1 mg. Sachets de type minigrip, Howag (Wohlen). Tubes à centrifuger en téflon de 50 ml avec fermeture à vis, tubes à essai de 10 et 30 ml en pyrex avec fermeture à vis, mortier et pistil en porcelaine, machine à agiter Heidolph unimax 2010, Merck (Grogg Chemie, Stettlen). Fioles de 2 ml pour passeur d'échantillons, Crimp top vial 2-CV et bouchons pour fioles, Crimp cap 11-AC-TST 1, Infochroma (Zoug). Pipettes Capilettor 50–250 µl, 0,5–2,5 ml et 1–5 ml, Boehringer Mannheim (Rotkreuz). Pompe à vide Divac 1,2 l munie d'un réglage du vide Divatronic DT 1, Leybold (Ecublens). Colonne d'extraction en phase solide (SPE) Bond Elut NH_2 (aminopropyl), 1 g ou 500 mg, volume 3 ml, Varian, P.H. Stehelin (Bâle). Colonne capillaire J.W. DB – FFAP, 15 m, 530 µm d.i., épaisseur de film 1 µm, domaine de température: 60–250 °C, MSP Friedli (Köniz). Précolonne: identique à la colonne capillaire, longueur 1 m. Chromatographe en phase gazeuse HP 6890 avec détecteur FID, passeur d'échantillons HP 7673 et logiciel d'évaluation des données HP 3365 Chem Station Upgrade, Agilent (Bâle).

Méthodes de dosage

Les concentrations en AGL et en acides gras des glycérides ont été déterminées dans les 60 fromages, et le pourcentage en AGL par rapport aux acides gras des glycérides a été calculé. La méthode de dosage des AGL ne permet pas de séparer les différents isomères des AGL C18:1, C18:2 et C18:3, alors que celle utilisée pour les AG des glycérides permet de séparer deux isomères C18:1, dix isomères C18:2 et deux isomères C18:3, dont les concentrations ont été additionnées.

Dosage des acides gras libres

Le dosage des acides gras libres (AGL) a été effectué selon la méthode proposée par de *Jong* et *Badings* (19) avec diverses modifications reportées ci-après. On triture 0,5 g de fromage d'Emmental ou 1 g des autres sortes de fromage avec 1,5 g de sulfate de sodium anhydre dans un mortier en porcelaine jusqu'à obtention d'une poudre sèche et homogène. La poudre ainsi obtenue est transférée dans un tube à centrifuger en téflon, additionnée de 0,3 ml d'acide sulfurique, de 1 ml de la solution de SI et extraite par agitation mécanique durant 2 min à l'aide d'un mélange de 3 ml d'éther diéthylique et d'heptane 1:1 (v:v). Après centrifugation à environ 500 g, la phase organique contenant la matière grasse (MG) et les AGL est transférée dans un tube à essai de 30 ml à l'aide d'une pipette pasteur. L'extraction est encore répétée deux fois et les trois extraits mélangés sont entièrement introduits sur la colonne SPE préalablement conditionnée avec 10 ml d'heptane. La MG co-extraite est éluée par 5 ml d'un mélange de 2-propanol et d'hexane 2:3 (v:v) puis les AGL par 5 ml d'éther diéthylique contenant 20 ml d'acide formique par litre. On injecte 1 µl de l'éluat (seringue de 5 µl). Entre chaque injection, on injecte une solution d'éther diéthylique et d'acide formique 100:2 (v:v) afin d'éviter tout effet mémoire sur la colonne. Le lavage de la seringue d'injection est effectuée à l'aide d'une solution de 2-propanol et d'hexane 2:3 (v:v), suivie d'un rinçage avec de l'éther diéthylique. On évite ainsi tout blocage du piston.

Dosage des acides gras des glycérides

La méthode selon *Collomb et Bühler* (20) a été utilisée. La MG est transestérifiée par une solution de KOH dans le méthanol et les teneurs en esters méthyliques des acides gras sont calculés par rapport à l'acide nonanoïque utilisé comme standard interne. Les résultats sont exprimés en g d'acide gras par 100 g de MG.

Conditions chromatographiques du dosage des acides gras libres

Gas porteur: hélium, 12,4 ml/min, flux constant (30 kPa, 86,6 cm/s). Température du four: 35 °C, 15 °C/min jusqu'à 130 °C, 5 min à 130 °C, 5 °C/min jusqu'à 220 °C, 10 min à 220 °C. Temps total: 40 min. Injecteur: on column, mode track oven (la température de l'injecteur est toujours plus élevée de 3 °C que celle du four). Détecteur: FID, 250 °C.

Calcul des facteurs de correction et de la composition en acides gras libres

Les facteurs de correction sont calculés sur la base de la moyenne arithmétique des résultats de trois injections de la solution de calibrage des AGL additionnés des trois SI. Pour les AGL ne figurant pas dans la solution de calibrage, on calcule la moyenne arithmétique des facteurs de correction correspondant aux AGL C10 à C18:1. Le calcul des facteurs de correction des AGL présents dans la solution de calibrage est effectué selon la formule suivante :

$$Rf_i = \frac{m_i}{A_i}$$

Rf_i = Facteur de correction de l'acide gras libre i (AGLi)
m_i = Masse de l'AGLi
A_i = Surface du pic chromatographique de l'AGLi

Les facteurs de correction normés aux SI = 1000 sont respectivement d'environ 1,15 pour l'AGL C4 (SI C5 = 1000) et très proches de 1,0 pour les autres AGL.

La composition en AGL dans le fromage est calculée avec la formule suivante : (C5 sert de SI pour le calcul de l'AGL C4, C7 pour les AGL C6 et C8 et C13 pour les autres AGL).

$$ci\ (\text{mmol/kg de fromage}) = \frac{Rf_i \times A_i \times mis \times 1000}{Rfis \times Ais \times mé \times PM}$$

ci = Concentration de l'AGLi en mmol/kg de fromage
Rf_i = Facteur de correction de l'AGLi
Rfis = Facteur de correction du standard interne
A_i = Surface du pic chromatographique de l'AGLi
Ais = Surface du pic chromatographique du SI
mis = Masse du SI (C5, C7 et C13) en mg
mé = Masse de l'échantillon en g
PM = Masse molaire de l'AGLi

Analyses statistiques

L'analyse de variance et les comparaisons par paire des valeurs moyennes avec le test Fisher LSD ont été exécutées avec le programme Systat pour Windows, version 9,0.

Résultats et discussion

Précision de la méthode

La répétabilité r a été calculée avec la formule suivante :

$$s_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{m} d_i^2}{2m}}$$

$$r = 2.83 \times s_r$$

d_i = Différences entre les déterminations à double
m = Nombre de déterminations à double
s_r = Ecart-type de la répétabilité

Le tableau 2 présente les écart-types de la répétabilité obtenus dans cet essai et les comparent avec ceux de la répétabilité et de la reproductibilité calculés lors d'un essai comparatif international concernant le fromage d'Emmental (21).

Tableau 2
Précision de la méthode (60 fromages à double, mmol/kg)

Acides gras libres	S_r *(cette étude)*	S_r *Emmental (essai collaboratif) (21)*	S_R
C4	0,064	0,031	0,045
C6	0,011	0,009	0,043
C8	0,003	0,009	0,051
C10	0,007	0,018	0,152
C10:1	0,003	0,001	0,172
C12	0,007	0,017	0,045
C12:1 + C12 anteiso	0,021	n. i.	n. i.
C13 iso	0,001	n. i.	n. i.
C14	0,027	0,045	0,209
C14:1 + C14 iso	0,003	0,005	0,033
C14 anteiso	0,002	n. i.	n. i.
C15	0,003	0,007	0,072
C15:1 + C15 iso	0,002	n. i.	n. i.
C16	0,103	0,096	0,121
C16:1	0,005	0,006	0,057
C16 iso	0,003	n. i.	n. i.
C16 anteiso	0,003	n. i.	n. i.
C17	0,006	0,009	0,096
C17:1	0,007	n. i.	n. i.
C18	0,029	0,022	0,177
C18:1	0,042	0,070	0,414
C18:2	0,018	0,012	0,064
C18:3	0,008	0,010	0,029
C18:2 conj.	0,006	n. i.	n. i.
C20	0,001	n. i.	n. i.
Σ C6–C20	0,333	n. i.	n. i.
Σ C4–C10	0,070	n. i.	n. i.

Légende : Σ = somme ; conj. = conjugué ; n. i. = non indiqué ; S_r = écart-type de la répétabilité ; S_R = écart-type de la reproductibilité

On constate que les écart-types de la répétabilité obtenus dans cet essai avec six sortes de fromage différents sont similaires à ceux obtenus lors de l'essai collaboratif ayant porté sur l'Emmental (21). Les valeurs de *r* données dans le tableau 3 indiquent que la différence absolue entre deux résultats distincts obtenue par le même opérateur sur le même fromage dans un court laps de temps ne doit pas être dépassée dans 95 % des cas.

Tableau 3
Comparaison entre les teneurs en acides gras libres (mmol/kg) de fromages frais et congelés

Acides gras libres	*Sbrinz*		*Emmental*		*Gruyère*		*Vacherin fribourgeois*		*Tête de moine*		*Tilsit*		*P*	Diff	r
	frais	*cong. 11 m*	*frais*	*cong. 9 m*	*frais*	*cong. 9 m*	*frais*	*cong. 11 m*	*frais*	*cong. 9 m*	*frais*	*cong. 10 m*		*$\bar{x}$ cong. –$\bar{x}$ frais*	
C4	0,590	0,599	1,431	1,290	1,457	1,300	3,416	3,207	0,814	0,792	0,344	0,347	NS	–0,086	0,182
C6	0,143	0,164	0,352	0,396	0,140	0,152	0,091	0,081	0,218	0,238	0,056	0,059	NS	0,015	0,031
C8	0,068	0,084	0,197	0,228	0,044	0,056	0,024	0,027	0,104	0,118	0,022	0,022	*	0,013	0,009
C10	0,138	0,161	0,416	0,453	0,094	0,104	0,060	0,063	0,276	0,282	0,066	0,068	NS	0,014	0,019
C10:1	0,009	0,025	0,037	0,052	0,012	0,016	0,004	0,010	0,006	0,034	0,008	0,009	*	0,011	0,007
C12	0,177	0,193	0,624	0,670	0,127	0,138	0,094	0,092	0,384	0,373	0,122	0,121	NS	0,010	0,021
C12:1+C12 anteiso	0,019	0,016	0,038	0,049	0,031	0,034	0,036	0,034	0,216	0,235	0,040	0,043	NS	0,005	0,060
C13 iso	0,017	0,009	0,031	0,031	0,007	0,007	0,007	0,004	0,019	0,014	0,005	0,005	NS	–0,003	0,004
C14	0,521	0,545	2,035	2,171	0,385	0,416	0,232	0,237	0,947	0,922	0,355	0,349	NS	0,028	0,077
C14:1+C14 iso	0,062	0,064	0,211	0,235	0,035	0,042	0,024	0,028	0,106	0,108	0,030	0,033	NS	0,007	0,010
C14 anteiso	0,027	0,025	0,102	0,110	0,016	0,019	0,009	0,010	0,038	0,037	0,013	0,014	NS	0,002	0,005
C15	0,061	0,061	0,217	0,243	0,043	0,049	0,028	0,029	0,093	0,094	0,042	0,042	NS	0,006	0,009
C15:1+C15 iso	0,019	0,016	0,051	0,060	0,010	0,013	0,007	0,007	0,023	0,023	0,009	0,012	NS	0,002	0,005
C16	1,257	1,284	5,860	6,396	1,093	1,175	0,669	0,647	2,256	2,218	1,029	0,996	NS	0,092	0,292
C16:1	0,102	0,083	0,364	0,348	0,084	0,080	0,070	0,053	0,135	0,130	0,082	0,073	**	–0,012	0,013
C16 iso	0,034	0,021	0,116	0,104	0,025	0,018	0,025	0,012	0,047	0,038	0,022	0,016	***	–0,010	0,009
C16 anteiso	0,042	0,024	0,145	0,109	0,018	0,020	0,023	0,010	0,048	0,037	0,033	0,015	*	–0,016	0,008
C17	0,061	0,031	0,166	0,124	0,045	0,026	0,047	0,015	0,053	0,042	0,044	0,023	**	–0,026	0,015
C17:1	0,062	0,019	0,122	0,066	0,048	0,016	0,050	0,011	0,034	0,025	0,050	0,016	**	–0,036	0,019
C18	0,379	0,321	1,472	1,553	0,312	0,310	0,228	0,169	0,537	0,527	0,268	0,229	NS	–0,014	0,082
C18:1	0,825	0,800	3,265	3,482	0,663	0,681	0,401	0,340	1,144	1,202	0,572	0,501	NS	0,023	0,118
C18:2	0,195	0,142	0,676	0,568	0,197	0,135	0,156	0,084	0,257	0,229	0,185	0,110	**	–0,066	0,050
C18:3	0,038	0,048	0,140	0,145	0,052	0,049	0,051	0,032	0,099	0,081	0,050	0,038	NS	–0,006	0,021
C18:2 conj.	0,018	0,030	0,122	0,150	0,025	0,025	0,017	0,014	0,050	0,049	0,030	0,025	NS	0,006	0,016
C20	0,007	0,005	0,009	0,019	0,003	0,004	0,004	0,004	0,008	0,007	0,002	0,005	NS	0,002	0,003
Σ C6–C20	4,282	4,174	16,769	17,763	3,505	3,585	2,358	2,011	7,099	7,063	3,136	2,823	NS	0,045	0,943
Σ C4–C10	0,939	1,008	2,396	2,367	1,734	1,611	3,591	3,378	1,412	1,430	0,487	0,496	NS	–0,045	0,197

Légende : Σ=somme ; conj.=conjugué ; cong. x m=congelé durant x mois ; Diff. $\bar{x}$ cong. – $\bar{x}$ frais=différence entre la moyenne pour les fromages congelés et la moyenne pour les fromages frais ; NS : non significatif ; P=significance : *=p≤0,05 ; **=p≤0,01 ; ***=p≤0,001 ; r=répétabilité

Influence de la congélation sur la composition en acides gras libres dans le fromage

Le tableau 3 présente une comparaison des teneurs en acides gras libres de six fromages différents analysés à double à l'état frais et après congélation durant neuf ou onze mois.

On constate que les teneurs de la plus grande partie des AGL ne se différencient pas significativement mis à part celles en AGL C8 et C10:1 qui augmentent significativement ($P \leq 0{,}05$) durant l'entreposage à l'état congelé et celles en AGL C18:2 et C16:1 ($P \leq 0{,}01$) et en acides mineurs C16 iso ($P \leq 0{,}001$), C16 anteiso ($P \leq 0{,}05$), C17 et C17:1 ($P \leq 0{,}01$) qui diminuent. Cependant, les concentrations de ces AGL significativement différents sont relativement faibles et leurs variations sont très proches des valeurs de la répétabilité de la méthode. L'entreposage des échantillons de fromage à –20 °C durant 9 à 11 mois n'a donc provoqué qu'une variation négligeable des teneurs en AGL, probablement en raison d'une activité des lipases microbiennes fortement ralentie. En conséquence, et contrairement au lait dans lequel on constate une augmentation importante des teneurs en AGL après la congélation (données non reportées), les échantillons de fromage peuvent être congelés avant l'analyse.

Composition en acides gras libres dans divers fromages suisses produits en saisons hivernale et estivale

Les tableaux 4 et 5 présentent les teneurs en AGL dans les fromages de type Emmental, Gruyère, Sbrinz, Tilsit, Appenzell et Vacherin fribourgeois produits en saisons hivernale et estivale dans les mêmes fromageries. Dans le but de donner une indication générale de la lipolyse, on a également calculé la somme des AGL (Σ C6–C20) sans prendre en compte les teneurs de l'acide butyrique (C4) en raison de sa provenance due non seulement à la lipolyse mais aussi à une éventuelle fermentation butyrique. Quant à la somme des teneurs en AGL C4 à C10, elle donne une indication sensorielle de la rancidité (11).

Composition en acides gras libres indépendamment des variations saisonnières

Indépendamment des variations saisonnières, on constate tout d'abord que les teneurs en AGL dans l'Emmental sont nettement plus élevées que dans les autres sortes de fromage et qu'elles sont les plus basses dans le Vacherin fribourgeois. Les valeurs extrêmes de la somme des AGL C6–C20 varient entre 11,0 et 21,7 mmol/kg dans l'Emmental âgé de 6 mois, entre 3,1 et 4,0 mmol/kg dans le Gruyère de 6 mois, entre 3,0 et 4,9 mmol/kg dans le Sbrinz de 12 mois, entre 2,5 et 3,9 mmol/kg dans le Tilsit de 3 mois, entre 2,3 et 5,2 mmol/kg dans l'Appenzell de 3 mois et entre 1,7 et 3,3 mmol/kg dans le Vacherin fribourgeois âgé de 3 mois. *Zerfiridis et al.* (22) indiquent des concentrations en AGL semblables à nos valeurs dans des fromages d'Emmental de Grèce et *Woo et al.* (23) dans des fromages d'Emmental et de

Tableau 4
Teneurs en acides gras libres (mmol/kg) dans l'Emmental, le Gruyère et le Sbrinz (n=5 par sorte de fromage et saison)

Acides gras libres	*Emmental (âge : 6 mois)*					*Gruyère (âge : 6 mois)*					*Sbrinz (âge : 12 mois)*				
	Hiver		*Eté*		*H/E*	*Hiver*		*Eté*		*H/E*	*Hiver*		*Eté*		*H/E*
	$\bar{x}$	S_x	$\bar{x}$	S_x	*P*	$\bar{x}$	S_x	$\bar{x}$	S_x	*P*	$\bar{x}$	S_x	$\bar{x}$	S_x	*P*
C4	1,116	0,125	0,919	0,200	NS	1,403	0,602	1,330	0,791	NS	0,531	0,044	0,430	0,039	*
C6	0,494	0,048	0,338	0,048	***	0,127	0,031	0,148	0,029	NS	0,142	0,012	0,120	0,016	*
C8	0,337	0,024	0,203	0,033	***	0,043	0,005	0,046	0,003	*	0,065	0,007	0,065	0,009	NS
C10	0,468	0,062	0,392	0,079	**	0,108	0,010	0,092	0,010	**	0,145	0,014	0,124	0,017	NS
C10:1	0,039	0,005	0,042	0,007	*	0,014	0,001	0,014	0,002	NS	0,008	0,002	0,003	0,001	**
C12	0,654	0,097	0,541	0,121	**	0,145	0,012	0,124	0,014	**	0,181	0,013	0,144	0,020	*
C12:1+C12 anteiso	0,035	0,005	0,039	0,008	NS	0,029	0,014	0,065	0,045	NS	0,017	0,002	0,012	0,002	*
C13 iso	0,026	0,005	0,025	0,006	NS	0,006	0,000	0,006	0,001	NS	0,013	0,002	0,008	0,001	**
C14	2,160	0,394	1,796	0,468	**	0,409	0,025	0,361	0,040	**	0,508	0,043	0,410	0,053	**
C14:1+C14 iso	0,202	0,035	0,195	0,047	NS	0,039	0,004	0,038	0,006	NS	0,060	0,006	0,045	0,009	**
C14 anteiso	0,096	0,020	0,112	0,030	*	0,015	0,002	0,019	0,003	**	0,024	0,003	0,021	0,003	**
C15	0,198	0,043	0,212	0,059	NS	0,043	0,004	0,043	0,005	NS	0,057	0,006	0,047	0,006	**
C15:1+C15 iso	0,051	0,011	0,050	0,014	NS	0,009	0,001	0,012	0,001	***	0,015	0,003	0,011	0,002	*
C16	6,353	1,347	5,098	1,364	**	1,116	0,083	0,957	0,122	**	1,248	0,098	0,970	0,127	***
C16:1	0,339	0,056	0,314	0,062	*	0,089	0,007	0,070	0,012	**	0,099	0,012	0,081	0,012	**
C16 iso	0,100	0,022	0,103	0,028	NS	0,027	0,002	0,018	0,002	***	0,033	0,006	0,023	0,004	**
C16 anteiso	0,092	0,022	0,109	0,029	**	0,024	0,011	0,019	0,002	NS	0,041	0,010	0,026	0,006	**
C17	0,103	0,025	0,120	0,031	*	0,046	0,003	0,025	0,002	***	0,059	0,013	0,035	0,010	**
C17:1	0,060	0,010	0,065	0,012	*	0,047	0,001	0,014	0,001	***	0,060	0,014	0,023	0,010	***
C18	1,482	0,328	1,560	0,412	NS	0,296	0,039	0,348	0,027	*	0,378	0,032	0,340	0,034	*
C18:1	3,606	0,507	3,722	0,650	NS	0,640	0,058	0,707	0,076	NS	0,843	0,124	0,885	0,099	NS
C18:2	0,533	0,078	0,511	0,098	NS	0,190	0,013	0,136	0,009	***	0,192	0,046	0,185	0,029	NS
C18:3	0,135	0,019	0,117	0,022	*	0,057	0,006	0,040	0,003	**	0,048	0,017	0,049	0,008	NS
C18:2 conj.	0,128	0,030	0,185	0,039	***	0,027	0,003	0,041	0,004	***	0,028	0,014	0,052	0,010	**
C20	0,010	0,002	0,010	0,003	NS	0,003	0,000	0,006	0,001	**	0,006	0,001	0,004	0,001	**
Σ C6–C20	17,700	3,082	15,861	3,607	*	3,549	0,268	3,352	0,298	*	4,269	0,455	3,682	0,421	**
Σ C4–C10	2,416	0,217	1,853	0,339	**	1,680	0,642	1,617	0,819	NS	0,883	0,055	0,738	0,077	**

Légende : S_x = écart-type ; H/E = Hiver/Eté ; autres légendes : voir tableau 3

Tableau 5

Teneurs en acides gras libres (mmol/kg) dans le Tilsit, l'Appenzell et le Vacherin fribourgeois (n = 5 par sorte de fromage et saison)

Acides gras libres	*Tilsit (âge : 3 mois)*					*Appenzell (âge : 3 mois)*					*Vacherin fribourgeois (âge : 3 mois)*				
	Hiver		*Eté*		*H/E*	*Hiver*		*Eté*		*H/E*	*Hiver*		*Eté*		*H/E*
	$\bar{x}$	S_x	$\bar{x}$	S_x	*P*	$\bar{x}$	S_x	$\bar{x}$	S_x	*P*	$\bar{x}$	S_x	$\bar{x}$	S_x	*P*
C4	0,360	0,067	0,488	0,191	NS	0,388	0,219	0,513	0,112	NS	1,069	0,560	0,786	[illegible]	NS
C6	0,069	0,018	0,093	0,009	*	0,057	0,031	0,080	0,021	NS	0,119	0,061	0,068	[illegible]19	NS
C8	0,029	0,011	0,037	0,005	NS	0,023	0,013	0,034	0,006	NS	0,025	0,003	0,028	,008	NS
C10	0,082	0,033	0,080	0,018	NS	0,079	0,038	0,075	0,024	NS	0,069	0,011	0,066	0,018	NS
C10:1	0,011	0,003	0,004	0,000	**	0,010	0,004	0,012	0,002	NS	0,004	0,001	0,009	0,002	*
C12	0,132	0,051	0,108	0,024	NS	0,130	0,055	0,107	0,033	NS	0,101	0,018	0,089	0,024	NS
C12:1+C12 anteiso	0,099	0,163	0,073	0,104	NS	0,023	0,015	0,019	0,010	NS	0,061	0,031	0,030	0,017	NS
C13 iso	0,006	0,001	0,006	0,001	NS	0,007	0,001	0,006	0,001	NS	0,007	0,000	0,006	0,002	NS
C14	0,352	0,088	0,286	0,039	NS	0,414	0,134	0,309	0,068	NS	0,261	0,055	0,237	0,070	NS
C14:1+C14 iso	0,034	0,011	0,033	0,004	NS	0,041	0,014	0,035	0,008	NS	0,030	0,007	0,034	0,013	NS
C14 anteiso	0,014	0,003	0,014	0,002	NS	0,020	0,006	0,017	0,003	NS	0,011	0,002	0,014	0,005	NS
C15	0,038	0,008	0,034	0,002	NS	0,047	0,012	0,036	0,007	NS	0,032	0,005	0,036	0,013	NS
C15:1+C15 iso	0,009	0,001	0,008	0,001	NS	0,012	0,002	0,009	0,001	NS	0,008	0,001	0,009	0,002	NS
C16	0,942	0,200	0,729	0,081	*	1,123	0,320	0,742	0,155	*	0,755	0,133	0,608	0,143	**
C16:1	0,075	0,013	0,075	0,012	NS	0,086	0,019	0,068	0,009	NS	0,072	0,005	0,069	0,029	NS
C16 iso	0,024	0,004	0,017	0,003	*	0,028	0,005	0,017	0,003	**	0,025	0,003	0,011	0,004	***
C16 anteiso	0,031	0,003	0,016	0,004	**	0,034	0,005	0,016	0,003	**	0,024	0,002	0,012	0,005	**
C17	0,043	0,004	0,022	0,005	**	0,049	0,005	0,020	0,003	***	0,046	0,001	0,017	0,005	***
C17:1	0,044	0,004	0,015	0,005	***	0,049	0,005	0,013	0,001	***	0,049	0,004	0,013	0,006	***
C18	0,266	0,038	0,246	0,041	NS	0,318	0,068	0,251	0,045	NS	0,254	0,030	0,210	0,052	*
C18:1	0,583	0,104	0,622	0,082	NS	0,734	0,204	0,628	0,067	NS	0,447	0,054	0,512	0,169	NS
C18:2	0,183	0,015	0,116	0,027	**	0,201	0,030	0,119	0,022	*	0,136	0,015	0,095	0,026	*
C18:3	0,051	0,006	0,033	0,004	**	0,057	0,010	0,033	0,005	*	0,042	0,011	0,034	0,013	NS
C18:2 conj.	0,029	0,003	0,031	0,008	NS	0,035	0,008	0,034	0,002	NS	0,014	0,003	0,027	0,009	*
C20	0,002	0,000	0,003	0,001	**	0,004	0,001	0,004	0,001	NS	0,006	0,001	0,004	0,001	NS
Σ C6–C20	3,148	0,483	2,703	0,250	NS	3,576	0,959	2,690	0,480	NS	2,595	0,297	2,240	0,614	NS
Σ C4–C10	0,540	0,125	0,700	0,204	NS	0,544	0,299	0,708	0,149	NS	3,215	3,252	0,948	0,329	NS

Légende : voir tableaux 3 et 4

Gruyère de Suisse provenant du commerce de détail. Quant aux autres sortes de fromages analysées dans cette étude, leurs teneurs en AGL n'ont, à notre connaissance, jamais été publiées.

Les fortes concentrations en AGL dans l'Emmental sont dues à l'activité lipolytique des bactéries lactiques mésophiles et thermophiles (4–8) mais surtout à celle plus élevée des bactéries propioniques (9, 10). Récemment, *Chamba* et *Perreard* (24) ont effectué un essai de fabrication avec du lait microfiltré ensemencé ou non avec des bactéries propioniques. Ils ont confirmé les résultats de *Driessen* (2) sur l'inactivation de la lipase originelle du lait lors de la cuisson du caillé et ceux de *Paulsen et al.* (3) sur l'importance des bactéries propioniques dans la lipolyse du fromage d'Emmental durant la maturation. L'activité lipolytique des bactéries propioniques dépend des souches employées et des lactobacilles thermophiles homofermentaires interagissent sur la lipolyse de l'Emmental par un mécanisme non élucidé. Des teneurs en AGL C6–C20 variant entre 6,3 et 33,3 mmol/kg ont été obtenues en utilisant diverses souches de bactéries propioniques lors de la fabrication de l'Emmental (données non réportées). Certaines souches de *Pseudomonas* de la flore psychrotrophe peuvent aussi se développer et synthétiser des lipases thermostables (25) actives pendant l'affinage (2, 26, 27). Parmi les sortes de fromages du même âge, la concentration la plus faible en AGL C6 à C20 a été obtenue pour le Vacherin fribourgeois, ce qui correspond aux données de la littérature relatives à la faible activité des bactéries lactiques mésophiles (4, 5). Pour ce fromage, l'activité lipolytique de la flore psychrotrophe ainsi que celle de la présure (28, 29) doit être d'autant plus importante que l'activité des lactobacilles est faible. Mis à part l'Emmental et le Vacherin fribourgeois, les teneurs en AGL des autres sortes de fromage sont relativement similaires, même si les degrés de maturation sont différents (moyenne Σ C6–C20: 2,7 à 4,3 mmol/kg), surtout en raison des bactéries lactiques mésophiles et thermophiles utilisés pour leur fabrication.

Quant à la répartition des AGL dans les fromages étudiés, elle semble essentiellement dépendre de la proportion en AG individuels dans les glycérides de la MG du lait. En effet, les pourcentages pondéraux des AGL se situent dans le domaine de variation de ceux des AG liés au glycérol de la graisse de lait. Ces résultats sont en concordance avec ceux obtenus par d'autres auteurs (23, 24, 30, 31, 32, 33).

Composition en acides gras libres en fonction des saisons

En fonction des saisons, on remarque (tableaux 4 et 5) des teneurs en AGL à courtes chaînes C6 et C8 significativement plus élevées en hiver qu'en été dans l'Emmental, en AGL C6 dans le Sbrinz alors que la concentration en AGL C6 est significativement moins élevée dans le Tilsit et celle en AGL C8 dans le Gruyère. Les concentrations en AGL C6 à C8 ne sont pas significativement différentes entre les saisons dans l'Appenzell et le Vacherin fribourgeois. Celles en AGL saturés majeurs C10, C12, C14 et C16 sont plus élevées durant la période hivernale qu'en été dans toutes les sortes de fromages. Ces différences sont significatives pour ces

quatre AGL dans l'Emmental et le Gruyère, pour les AGL C12, C14 et C16 dans le Sbrinz mais seulement pour l'AGL C16 dans le Tilsit, l'Appenzell et le Vacherin fribourgeois. Les teneurs en acide palmitique (C16) significativement plus élevées en hiver qu'en été dans toutes les sortes de fromages sont en concordance avec les résultats obtenus par de nombreux auteurs (35, 36, 37). Quant aux teneurs en acide stéarique (C18), elles sont significativement moins élevées en hiver qu'en été dans les fromages de type Gruyère mais significativement plus élevées dans le Sbrinz et le Vacherin fribourgeois. Celles en acide oléique (C18:1) ne sont significativement différentes dans aucun des fromages analysés mais les valeurs tendent à être plus élevées dans les fromages produits en été que dans ceux fabriqués en hiver (exception: l'Appenzell). Les teneurs en acide linoléique (C18:2) sont significativement plus élevées dans les fromages d'hiver de type Gruyère, Tilsit, Appenzell et Vacherin fribourgeois que dans les mêmes fromages produits en été. Quant à l'acide linolénique (C18:3), ses teneurs sont significativement plus élevées dans les fromages d'hiver de type Emmental, Gruyère, Tilsit et Appenzell que dans ceux produits en été. Pour les acides linoléique conjugués (C18:2 conj.), leurs teneurs sont significativement plus élevées dans les fromages d'été de type Emmental, Gruyère, Sbrinz et Vacherin fribourgeois que dans les mêmes fromages produits durant la période hivernale.

Les données de la littérature concernant l'influence des saisons sur la lipolyse sont rares. Dans des fromages d'ovins, divers auteurs (35, 36) ont constaté des teneurs plus élevées de tous les AGL principaux saturés et insaturés produits durant l'hiver par rapport à ceux produits en d'autres saisons et d'autres (38) ont constaté une inversion de cette tendance à partir d'un certain degré de maturation. Selon *Poveda et al.* (36), les concentrations en AGL à courtes chaînes, plus élevées en hiver qu'en automne permettent au mieux de différencier les fromages de type Manchego en fonction des saisons. Selon *Virgili et al.* (37), les concentrations en AGL à moyenne longueur de chaîne C12, C14 et C16 sont importantes pour distinguer les fromages de lait de bovins Parmigiano Reggiano d'hiver de ceux des trois autres saisons.

En raison des modifications de la répartition en AG des glycérides du lait en fonction de l'affouragement saisonnier pouvant conduire à des variations importantes des AG lipolysables, les 60 fromages pris en compte dans notre étude ont été encore analysés quant à leurs teneurs en AG des glycérides. Dans le but de soustraire l'influence de l'alimentation, les concentrations en AGL individuels ont été exprimées en pourcentage des AG des glycérides.

Teneurs en acides gras libres en pourcentage des acides gras des glycérides

Le tableau 6 présente les teneurs en AGL en pourcentage des AG des glycérides dans tous les fromages considérés dans cet essai.

Tableau 6
Teneurs en acides gras libres en pourcentage des acides gras des glycérides dans divers fromages suisses

Fromage	*Saison*	*Données statistiques*	*C6*	*C8*	*C10*	*C12*	*C14*	*C16*	*C18*	*C18:1*	*C18:2*	*C18:3*	*C18:2 conj.*
Emmental	Hiver	$\bar{x}$	0,96	1,37	1,07	1,53	1,68	1,98	1,73	1,85	1,88	1,93	1,71
		S_x	0,10	0,10	0,12	0,18	0,28	0,41	0,32	0,17	0,24	0,24	0,22
	Eté	$\bar{x}$	0,61	0,80	0,84	1,19	1,34	1,58	1,68	1,74	1,63	1,59	2,10
		S_x	0,10	0,14	0,19	0,31	0,37	0,49	0,45	0,38	0,31	0,33	0,70
	Hiver/Eté	P	***	***	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Gruyère	Hiver	$\bar{x}$	0,23	0,17	0,23	0,31	0,29	0,32	0,32	0,31	0,62	0,62	0,34
		S_x	0,06	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,03	0,03	0,10	0,05
	Eté	$\bar{x}$	0,27	0,18	0,20	0,27	0,26	0,30	0,34	0,31	0,40	0,49	0,38
		S_x	0,06	0,02	0,03	0,05	0,04	0,05	0,04	0,05	0,04	0,06	0,12
	Hiver/Eté	P	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	***	*	NS
Sbrinz	Hiver	$\bar{x}$	0,25	0,26	0,32	0,41	0,36	0,36	0,41	0,37	0,56	0,52	0,28
		S_x	0,03	0,03	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03	0,05	0,13	0,21	0,12
	Eté	$\bar{x}$	0,22	0,26	0,28	0,34	0,31	0,31	0,35	0,39	0,50	0,56	0,43
		S_x	0,04	0,06	0,07	0,10	0,07	0,07	0,04	0,06	0,10	0,07	0,14
	Hiver/Eté	P	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS
Tilsit	Hiver	$\bar{x}$	0,14	0,13	0,19	0,31	0,28	0,31	0,35	0,33	0,67	0,62	0,37
		S_x	0,04	0,05	0,07	0,10	0,06	0,06	0,05	0,06	0,09	0,12	0,09
	Eté	$\bar{x}$	0,19	0,18	0,22	0,31	0,25	0,26	0,27	0,28	0,35	0,44	0,28
		S_x	0,03	0,03	0,05	0,07	0,04	0,04	0,06	0,06	0,10	0,10	0,08
	Hiver/Eté	P	*	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	***	*	NS
Appenzell	Hiver	$\bar{x}$	0,11	0,09	0,16	0,29	0,30	0,34	0,38	0,37	0,64	0,59	0,36
		S_x	0,06	0,05	0,08	0,11	0,09	0,09	0,08	0,11	0,09	0,12	0,09
	Eté	$\bar{x}$	0,16	0,15	0,20	0,28	0,25	0,26	0,25	0,27	0,34	0,41	0,31
		S_x	0,04	0,03	0,06	0,09	0,06	0,06	0,04	0,04	0,08	0,05	0,10
	Hiver/Eté	P	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	***	*	NS
Vacherin fribourgeois	Hiver	$\bar{x}$	0,22	0,10	0,15	0,23	0,20	0,23	0,30	0,24	0,49	0,47	0,22
		S_x	0,11	0,02	0,03	0,04	0,05	0,05	0,05	0,04	0,07	0,12	0,06
	Eté	$\bar{x}$	0,14	0,12	0,16	0,23	0,20	0,22	0,23	0,24	0,31	0,46	0,29
		S_x	0,04	0,04	0,05	0,08	0,07	0,06	0,05	0,07	0,08	0,17	0,10
	Hiver/Eté	P	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	**	NS	NS

Légende : voir tableaux 3 et 4

On constate tout d'abord que les pourcentages en AGL lipolysés significativement différents entre les saisons sont, à l'exception de l'AGL C6 ($P \leq 0{,}05$) pour le Tilsit, toujours plus élevés dans les fromages produits en hiver que dans ceux produits en été. Il s'agit de ceux en AGL C6 et C8 ($P \leq 0{,}001$) pour l'Emmental, en AGL C18 ($P \leq 0{,}05$) pour le Sbrinz, le Tilsit, l'Appenzell et le Vacherin fribourgeois, en AGL C18:2 pour le Gruyère ($P \leq 0{,}001$), le Tilsit ($P \leq 0{,}001$), l'Appenzell ($P \leq 0{,}001$) et le Vacherin fribourgeois ($P \leq 0{,}01$) et en C18:3 ($P \leq 0{,}05$) pour le Gruyère, le Tilsit et l'Appenzell. Par rapport aux résultats obtenus en analysant uniquement la composition en AGL (tableaux 4 et 5), on remarque que le nombre d'AGL dont les concentrations étaient significativement différentes entre les saisons a été fortement réduit. Cette réduction importante prouve l'influence primordiale des différences d'affouragement saisonnier sur la lipolyse qui modifie la concentration en substrat (AG des glycérides) lipolysable.

Quant à la nature des AGL dont les pourcentages en AGL sont encore significativement différents entre les saisons, les différences saisonnières de température de stockage du lait avant la fabrication influençant la flore psychrotrophe ou celles d'entreposage des fromages en cave réduisant l'activité lipolytique ou modifiant l'équilibre liquide/solide des glycérides (34) peuvent en être la cause. Pour ce dernier facteur, les AGL courts ou longs insaturés qui abaissent le point de fusion des triglycérides, sont ceux dont l'hydrolyse est la plus rapide. Selon divers auteurs (39, 40), l'hydrolyse globale des triglycérides est peu spécifique de la longueur de chaîne des AGL sur les glycérides. En analysant uniquement les AGL, *Berdagué et al.* (31) ont cependant noté un pourcentage pondéral moyen plus élevé d'AGL insaturés (C16:1, C18:2 et C18:3) dans l'Emmental que dans les AG des glycérides du lait qu'ils pensent pouvoir attribuer à des synthèses microbiennes. Nos résultats ne montrent pas des différences significatives pour ces AGL dans l'Emmental mais pour les deux AGL en C18 dans d'autres types de fromages. La répartition des teneurs en AGL individuels peut également être modifiée par une stéréospécificité éventuelle de certaines des nombreuses lipases du fromage (13) (lipolyse spécifique en sn1 [sn : numérotation stéréospécifique] ou sn3, la position sn2 étant peu réactive en raison d'un empêchement stérique).

Conclusions

Sur la base des valeurs de l'écart-type de la répétabilité, on peut conclure que la méthode de dosage des AGL utilisée dans ce travail est précise et représente actuellement le meilleur procédé pour suivre la lipolyse dans toutes les sortes de fromage.

La congélation du fromage n'a qu'une influence négligeable sur les teneurs en AGL et les échantillons peuvent donc être congelés avant l'analyse.

Les concentrations en AGL sont nouvelles pour certaines sortes de fromage analysées dans ce travail. On a en outre confirmé l'activité lipolytique la plus importante des bactéries propioniques, celle nettement plus faible des bactéries thermophiles et celle la plus faible des bactéries mésophiles. En effet, les teneurs en AGL

étaient 4 à 6 fois plus importantes dans l'Emmental dont les ferments étaient constitués de bactéries propioniques et lactiques mésophiles et thermophiles que dans le Gruyère, le Sbrinz, le Tilsit, et l'Appenzell contenant des bactéries lactiques mésophiles et thermophiles uniquement. En comparaison avec d'autres sortes de fromages du même âge, les concentrations en AGL les plus basses ont été trouvées dans le Vacherin fribourgeois dont les ferments sont constitués seulement de bactéries lactiques mésophiles.

En analysant, en plus des concentrations en AGL, celles en AG des glycérides des 60 fromages et en rapportant les teneurs en AGL en fonction des AG des glycérides, le nombre d'AGL dont les concentrations étaient significativement différentes entre l'hiver et l'été a été considérablement réduit. Les différences encore constatées varient en fonction des sortes de fromage et concernent le plus souvent des AGL à longues chaînes de 18 atomes de carbone. L'influence des saisons sur les teneurs en AGL dans le fromage est donc certaine mais elle est essentiellement due aux variations importantes des concentrations en AG des glycérides du lait en fonction de l'affouragement, modifiant ainsi celles en substrat (AG des glycérides) lipolysable. D'autres facteurs tels que l'influence des bactéries de la flore psychrotrophe si les laits ont été refroidis plus ou moins longtemps avant la fabrication ainsi que des différences éventuelles de température de stockage entre les fromages d'hiver et d'été peuvent également contribuer aux différences de concentrations en AGL constatées entre les saisons.

Remerciements

Les auteurs remercient *Jean-Pierre Häni, Fritz Rentsch, Rudolf Amrein* et *Hans Winkler* pour l'échantillonnage, et le Dr *Hans-Peter Bachmann* pour la lecture critique du manuscrit.

Résumé

Ce travail présente les teneurs en acides gras libres dans six sortes de fromages suisses mûrs produits en saisons estivale et hivernale. Il confirme la bonne précision de la méthode de dosage par chromatographie gaz-liquide employée et la congélation possible des échantillons avant l'analyse. Les teneurs en acides gras de la graisse des 60 fromages ont été également déterminées et celles en acides gras libres exprimées en pourcentage des acides gras de la graisse. Par comparaison avec le dosage unique des acides gras libres, le nombre d'acides dont les pourcentages étaient significativement différents entre l'hiver et l'été a été considérablement réduit. Parmi les nombreux facteurs influençant l'activité lipolytique dans les fromages, l'influence des différences d'affouragement entre les saisons est donc primordiale. Les différences significatives encore constatées, indépendantes de celles dues à l'affouragement, concernent deux acides à courtes chaînes pour l'Emmental et des acides gras à longues chaînes en C18 pour d'autres types de fromage.

Zusammenfassung

Diese Arbeit stellt die Gehalte an freien Fettsäuren von sechs reifen schweizerischen Käsen vor, die im Sommer und Winter hergestellt wurden. Sie bestätigt die gute Präzision der benützten gaschromatographischen Methode und die Möglichkeit, die Proben vor der Analyse einzufrieren. Neben den freien Fettsäuren wurden auch die Konzentrationen der individuellen Fettsäuren des Fettes von 60 Käsen analysiert und die Gehalte an freien Fettsäuren in Prozent der Fettsäuren des Fettes berechnet. Damit wurde die Anzahl der signifikant unterschiedlichen Säuren zwischen Sommer und Winter, im Vergleich zur alleinigen Bestimmung der freien Fettsäuren, deutlich reduziert. Unter den zahlreichen Faktoren, welche die lipolytische Aktivität in den Käsen beeinflussen, ist deshalb der Einfluss der Fütterung zwischen den Jahreszeiten ausschlaggebend. Die noch festgestellten signifikanten Unterschiede, von der Fütterung unabhängig, betreffen beim Emmentaler zwei kurzkettige Fettsäuren und bei anderen Käsesorten langkettige C18-Fettsäuren.

Summary "Gas chromatographic determination of free fatty acids in cheese: precision of the method and influence of seasons on lipolysis in different Swiss cheeses"

This study presents the content of individual free fatty acids in six different ripened Swiss cheeses. It confirms the good precision of the used gas chromatographic method and the possibility to freeze the cheese samples before the analysis. The concentration of the individual fatty acids in cheese fat was also determined and that of free fatty acids expressed as a percentage of the fatty acids in fat. The number of significantly different acids between the seasons was considerably reduced when compared to the determination of free fatty acids alone. Among the many factors which influenced the lipolytic activity that of different feeding modes between the seasons was therefore primordial. The remaining significant differences, independent of fodder, concerned two short chain free fatty acids for Emmental cheese and for other cheese types C18 long chain free fatty acids.

Key words

Swiss cheese, free fatty acids, lipolysis, seasonal variations

Bibliographie

1 *Fox P.F.* and *Law J.:* Enzymology of cheese ripening. Food Biotechnol. **5**, 239–262 (1991).

2 *Driessen F.M.:* Inactivation of lipases and proteinases (indigenous and bacterial). Bull. Int. Dairy Fed. **238**, 71–93 (1989).

3 *Paulsen P.V., Kowalewska J., Hammond E.G.* and *Glatz B.A.:* Role of microflora in production of free fatty acids and flavor in Swiss cheese. J. Dairy Sci. **63**, 912–918 (1980).

4 *Gobbetti M., Fox P.F.* and *Stepaniak L.:* Esterolytic and lipolytic activities of mesophilic and thermophilic lactobacilli. Ital. J. Food Sci. **2**, 127–135 (1996).

5 *Stadhouders J.* and *Veringa H.A.:* Fat hydrolysis by lactic acid bacteria in cheese. Neth. Milk Dairy J. **27**, 77–91 (1973).

6 *Gobbetti M., Fox P.F.* and *Stepaniak L.:* Isolation and characterization of a tributyrin esterase from *Lactobacillus plantarum* 2739. J. Dairy Sci. **80**, 3099–3106 (1997).
7 *Gobbetti M., Fox P.F., Smacchi E., Stepaniak L.* and *Damiati P.:* Purification and characterization of a lipase from *Lactobacillus plantarum* 2739. J. Food Biochem. **20**, 227–246 (1996).
8 *Gobbetti M., Smacchi E.* and *Corsetti A.:* Purification and characterization of a cell surface-associated esterase from *Lactobacillus fermentum* DT41. Int. Dairy J. **7**, 13–21 (1997).
9 *Dupuis C.:* Activités protéolytiques et lipolytiques des bactéries propioniques laitières. Thèse ENSA Rennes, 1994.
10 *Knaut T.* and *Mazurek K.:* Caractères lipolytiques des bactéries propioniques. XIX Int. Dairy Congr. B6, 425–426 (1974).
11 *Scanlan R.A., Sather L.A.* and *Day E.A.:* Contribution of free fatty acids to the flavour of rancid milk. J. Dairy Sci. **58**, 1582–1584 (1965).
12 *Lodi R.* et *Pirovano F.:* Activité lipolytique et arôme des fromages. Microbiologie Aliment. Nutr. **6**, 279–284 (1988).
13 *Seitz E.W.:* Microbial and enzyme induced flavors in dairy foods. J. Dairy Sci. **73**, 3664–3691 (1990).
14 *Boyaval P., Corre C., Dupuis C.* and *Roussel E.:* Effects of free fatty acids on propionic acid bacteria. Le Lait **75**, 17–29 (1995).
15 *Rainio A., Vahvaselkä M., Suomalainen T.* and *Laakso S.:* Reduction of linoleic acid inhibition in production of conjugated linoleic acid by *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii.* Can. J. Microbiol. **47**, 735–740 (2001).
16 *Rainio A., Vahvaselkä M., Suomalainen T.* and *Laakso S.:* Production of conjugated linoleic acid by *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii.* Le Lait **82**, 91–101 (2002).
17 *Sieber R., Collomb M., Aeschlimann A., Jelen P.* and *Eyer H.:* Formation of conjugated linoleic acid by microbial dairy cultures. Int. Dairy J., soumis pour publication (2003).
18 *Collomb M.* et *Spahni M.:* Revue des méthodes de dosage des acides gras libres dans le lait et les produits laitiers. Lebensm.-Wiss. u. -Tech. **28**, 355–379 (1995).
19 *de Jong C.* and *Badings H.T.:* Determination of free fatty acids in milk and cheese. Procedures for extraction, clean up, and capillary gas chromatographic analysis. J. High Resolut. Chromatogr. **13**, 94–98 (1990).
20 *Collomb M.* et *Bühler T.:* Analyse de la composition en acides gras de la graisse de lait. I. Optimisation et validation d'une méthode générale à haute résolution. Trav. Chim. Aliment. Hyg. **91**, 306–332 (2000).
21 *Bütikofer U.:* Collaborative Study on the determination of free fatty acids in butter and cheese. FAM Information **325**, 1–173 (1996).
22 *Zerfiridis K.G., Vafopoulou-Mastrogiannaki A.* and *Litopoulou-Tzanetaki E.:* Changes during ripening of commercial "Gruyère" cheese. J. Dairy Sci. **67**, 1397–1405 (1984).
23 *Woo A.H., Kollodge S.* and *Lindsay R.C.:* Quantification of major free fatty acids in several cheese varieties. J. Dairy Sci. **67**, 874–878 (1984).
24 *Chamba J.F.* and *Perreard E.:* Contribution of propionic acid bacteria to lipolysis of Emmental cheese. Le Lait **82**, 33–44 (2002).
25 *Cogan T.M.:* Heat resistant lipases and proteinases and the quality of dairy products. Int. Standard FIL-IDF **43**, 25–31 (1977).
26 *Driessen F.M.:* Lipases and proteinases in milk. Occurrence, heat inactivation and their importance for the keeping quality of milk products. These V 236, Netherlands Instituut voor Zuivelonderzoch (157 p.), Ede, (1983).
27 *Driessen F.M.* and *Stadhouders J.:* Lipolysis in hard cheese made from pasteurized milk. Ann. Bull. Fed. Int. Lait. **86**, 101–103 (1975).
28 *Larráyoz P., Martinez M.T., Barrón L.J.R., Torre P.* and *Barcina Y.:* The evolution of free fatty acids during the ripening of Idiazábal cheese: influence of rennet type. Eur. Food Res. Technol. **210**, 9–12 (1999).

29 *Stead D.:* Microbial lipases: their characteristics, role in food spoilage and industrial uses. J. Dairy Res. **53**, 481–505 (1986).
30 *Bauchard D.* et *Chilliard Y.:* Analyse quantitative et qualitative des acides gras libres au cours de la lipolyse du lait de vache, par adsorption sur résine échangeuse d'ions et par chromatographie en phase gazeuse. Brochure ITEB INRA no 84031, 9 pages, St Genes Champanelle (1983).
31 *Berdagué J.L., Grappin R., Delacroix-Buchet A.* et *Chaillet B.:* Caractérisation de l'Emmental «Grand-Cru» français. I. Composition physico-chimique. Le Lait **70**, 1–14 (1990).
32 *Kuzdzal-Savoie S.:* La dégradation lipolytique de la matière grasse laitière. La Technique laitière **966**, 17–26 (1982).
33 *Woo A.H.* and *Lindsay R.C.:* Concentration of major free fatty acids and flavor development in Italian cheese varieties. J. Dairy Sci. **67**, 960–968 (1984).
34 *Chilliard Y.* et *Lamberet G.:* La lipolyse dans le lait: les différents types, mécanismes, facteurs de variation, signification pratique. Le Lait **64**, 544–578 (1984).
35 *Chávarri F., Angeles Bustamante M., Santisteban A., Virto M., Barrón L.J.R.* and *de Renobales M.:* Changes in free fatty acids during ripening of Idiazabal cheese manufactured at different times of the year. J. Dairy Sci. **82**, 885–890 (1999).
36 *Poveda J.M., Perez Coello M.S.* and *Cabezas L.:* Seasonal variations in the free fatty acid composition of Manchego cheese and changes during ripening. Eur. Food Res. Technol. **210**, 314–317 (2000).
37 *Virgili R., Parolari G., Bolzoni L., Mangia A., Careri M., Spagnoli S., Panari G.* and *Zannoni M.:* Sensory chemical relationships in Parmigiano Regggiano cheese. Lebensm.-Wiss. u. -Techol. **27**, 491–495 (1994).
38 *Macedo A.C.* and *Malcata F.X.:* Changes in the major fatty acids in Serra cheese throughout ripening. Int. Dairy J. **6**, 1087–1097 (1996).
39 *Choisy C., Desmazeaud M., Gripon J.C., Lamberet G., Lenoir J.* et *Tourneur C.:* Les phénomènes microbiologiques et enzymatiques et la biochimie de l'affinage. Dans: Le fromage, (Eck A. ed.), Technique et Documentation, Paris, 62–100 (1987).
40 *de Man J.M.:* Partial glycerides in the fat of Cheddar cheese. J. Dairy Sci. **49**, 343–345 (1966).

Adresse du correspondant: Dr Marius Collomb, Station fédérale de recherches laitières, Liebefeld, CH-3003 Berne, e-mail: marius.collomb@fam.admin.ch