La flaveur des fromages

I. — UNE METHODOLOGIE NOUVELLE D'ISOLEMENT DE CONSTITUANTS VOLATILS APPLICATION AU ROQUEFORT ET AU CAMEMBERT

par

M. MOINAS, M. GROUX (1) et I. HORMAN

*Département de Recherche et Développement
Société d'Assistance Technique pour produits Nestlé S.A.
Case Postale, 1009, CH-1001 Lausanne*

Directeur du Département R. et D. : Professeur L. REY

I. — INTRODUCTION

Le but de cette étude est double. Premièrement, nos travaux sur les constituants volatils d'un arôme de produits laitiers nous ont amenés à mettre au point une méthodologie nouvelle d'isolement et d'enrichissement. Il s'est en effet avéré nécessaire de se pencher sur ces questions, eu égard à la relative pauvreté en constituants volatils des produits laitiers. D'autre part, comme l'a déjà signalé C. Weurman [1], il est généralement préférable d'enrichir les solutions de constituants volatils avant de les extraire par des solvants. La méthodologie mise au point permet des contrôles organoleptiques au niveau de l'isolement et de l'enrichissement. Les résultats obtenus avec le Roquefort et le Camembert montrent combien les constituants volatils de l'arôme de ces deux fromages sont proches du point de vue qualitatif. En outre, les résultats comparatifs entre le Camembert jeune et bien fait (mûr) montrent l'évolution très caractéristique des constituants volatils lors de la maturation et de l'affinage de ce fromage.

(1) A qui la correspondance peut être adressée. Nouvelle adresse au 1-10-73 : Alpura-Koreco, 3510 Konolfingen (Suisse).

II. — PARTIE EXPERIMENTALE

Méthodologie d'isolement, d'enrichissement, d'extraction et d'analyses des constituants volatils d'un arôme

A. CONSTITUANTS VOLATILS DE L'ARÔME DE ROQUEFORT ET DE CAMEMBERT MURS

1) *Isolement des constituants volatils*

Dix kg environ de fromage sont mis en suspension dans 20 l d'eau bidistillée. Les constituants volatils sont isolés par entraînement sous pression réduite à l'aide d'un gaz inerte (argon), selon une méthode déjà décrite par M. Moinas [2]. L'entraînement s'effectue pendant 2 j et on recueille ainsi environ 5 à 6 l d'une solution aqueuse diluée dont l'odeur est typique du fromage de départ.

2) *Concentration et extraction des constituants volatils par un solvant*

Cinq litres de solution aqueuse diluée sont cryoconcentrés en 20 h (bain réfrigérant à -10°C) de 8 à 15 fois à l'aide d'un appareil de la maison Virtis.

Environ 250 ml de la solution cryoconcentrée sont extraits en continu par de l'éther éthylique, fraîchement distillé, à l'aide d'un extracteur-concentrateur mis au point par H. Maarse [3]. L'éther éthylique a été choisi pour ses caractéristiques d'extractibilité (solvant peu sélectif) et aussi parce qu'il apparaît en tête des chromatogrammes. La quantité de solvant utilisée est de 7 à 10 ml et l'extraction est effectuée pendant 6 à 7 h.

3) *Chromatographie en phase gazeuse (CG) et spectrométrie de masse*

Le chromatographe à gaz utilisé est de marque Perkin-Elmer (type F-20), équipé d'un détecteur à ionisation de flamme, stabilisé à 250°C et d'un diviseur de débit 1/50. Une colonne Carbowax 20 M en acier de 50 m, diamètre intérieur égal à 0,25 mm (colonne capillaire), opère en programmation de température de 75°C à 200°C à raison de 2°C par mn.

Le gaz vecteur est l'hélium (1 ml/mn). Les gaz de la flamme ont les débits suivants : hydrogène (30 ml/mn), air (350 ml/mn) et hélium (20 ml/mn) comme alimentation auxiliaire. Les chromatogrammes sont enregistrés sur un enregistreur potentiométrique et les surfaces des pics obtenus sont mesurées par un intégrateur électronique. L'extrait éthéré est injecté à raison de 2 à 3 μl et est volatilisé à une température de 250°C . Le même extrait est ensuite injecté dans un gaz-chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectrographe de masse de marques AEI-MS-20.

B. CONSTITUANTS VOLATILS DE L'ARÔME DE CAMEMBERT TRÈS JEUNE (PEU FAIT)

Les constituants volatils sont isolés à partir d'environ 1 kg de fromage selon la méthode d'entraînement à l'argon sous pression réduite (comme sous A), dans une installation de plus petite dimension. La solution aqueuse (env. 50 ml) obtenue est ensuite extraite, par du chlorure de méthylène distillé, en trois étapes par 20 ml, 15 ml puis 10 ml de solvant.

Une partie du solvant est ensuite évaporée dans des conditions ménagées, à l'aide d'un appareil déjà décrit par M. Moinas [2].

L'analyse chromatographique est effectuée dans les mêmes conditions que sous A. Les composés sont identifiés par comparaison des indices de Kovats des constituants trouvés pour le Camembert bien fait.

III. — RESULTATS

A. COMPARAISON DES CONSTITUANTS VOLATILS DE L'ARÔME DE ROQUEFORT ET DE CAMEMBERT MURS

La figure 1 montre les chromatogrammes obtenus à partir des extraits de Roquefort et de Camembert de très bonne qualité.

Le tableau 1 résume les données relatives aux constituants trouvés. Les extraits éthérés avaient les concentrations respectives de 21 p. 100 (Roquefort) et 7,3 p. 100 (Camembert).

B. COMPARAISON DES CONSTITUANTS VOLATILS DE L'ARÔME DE CAMEMBERTS MUR ET JEUNE

La figure 2 montre le chromatogramme obtenu avec les constituants volatils de l'arôme de Camembert jeune (concentration en constituants volatils : 13 p. 100).

Le tableau 2 résume les données relatives aux Camemberts jeune et mûr.

IV. — DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Les résultats du tableau 1 montrent que les constituants volatils neutres des arômes de Roquefort et de Camembert mûr sont surtout représentés par des méthylcétones et des alcools secondaires. Ces derniers sont présents en quantités relativement plus grandes dans le Camembert que dans le Roquefort.

Les méthylcétones principales du Roquefort sont celles en C₅, C₇ et C₉ (principalement C₇), alors que dans le Camembert mûr la nonanone-2 est la plus abondante. Ceci confirme les résultats de

fig. 1

Chromatogrammes à gaz des constituants volatils de l'arôme de Roquefort (a) et de Camembert (b). Atténuation constante de 10 X

TABLEAU 1. — Constituants volatils de l'arôme de Roquefort et de Camembert

Indices de Kovats	Constituants	Roquefort (p. 100)	Camembert (p. 100)	Confirmation par spectrographie de masse
—	éther éthylique	—	—	—
826/827	acétone	1 - 5	<1	positive
908	butanone	1 - 5	—	positive
920/925	éthanol	1 - 5	<1	positive
1021	pentanone-2	10 - 20	—	positive
1106	pentanol-2	1 - 5	—	positive
1191/1193	heptanone-2	20 - 40	1 - 5	positive
1198	non identifié	1 - 5	5 - 10	—
1308	heptanol-2	1 - 5	10 - 20	positive
1395/1398	nonanone-2	10 - 20	20 - 40	positive
1449	octène-1 ol-3	1 - 5	5 - 10	positive
1453	heptanol-1	—	5 - 10	à confirmer
1485	non identifié	—	1 - 5	—
1508/1513	nonanol-2	<1	5 - 10	positive
1602/1605	undécanone-2	<1	1 - 5	positive

C

fig. 2

Chromatogramme des constituants volatils de l'arôme de Camembert jeune (c).
Atténuation constante de 10 X

TABLEAU 2

Constituants volatils des arômes de Camemberts mûr et jeune

Indice de Kovats	Constituants	Camembert mûr (p. 100)	Camembert jeune (p. 100)
—	éther éthylique	—	—
827/825	acétone	<1	20 - 40
903	butanone	—	1 - 5
925/919	éthanol	<1	<1
—	chlorure de méthylène	—	—
988	diacétyl	—	1 - 5
1012	pentanone-2	—	1 - 5
1029	non identifié	—	5 - 10
1104	pentanol-2	—	<1
1193/1193	heptanone-2	1 - 5	1 - 5
1200/1200	non identifié	5 - 10	5 - 10
1308/1311	heptanol-2	10 - 20	1 - 5
1398/1399	nonanone-2	20 - 40	1 - 5
1449/1447	octène-1 ol-3	5 - 10	<1
1453/1454	heptanol-1 (?)	5 - 10	<1
1485/1488	non identifié	1 - 5	1 - 5
1513/1513	nonanol-2	5 - 10	<1
1605	undécانون-2	1 - 5	—

D.P. Schwartz et O.W. Parks [4]. Selon S. Patton [5], les méthylcétone proviennent des acides gras (β -oxydation). Les constituants volatils de l'arôme du Roquefort de même que ceux du Camembert mûr résultent donc de la maturation secondaire au sens défini par H. Van Duin [6].

Les deux arômes se distinguent en outre par les quantités d'octène-1 ol-3, constituant volatil principal de l'arôme de Champignons de Paris. Compte tenu des résultats du tableau 1 et des quantités de constituants volatils totaux isolés du Roquefort et du Camembert, on constate que le Camembert contient environ 5 à 10 fois plus d'octène-1 ol-3 que le Roquefort.

Des essais d'aromatisation d'une base relativement neutre (fromage fondu à base de Fontina de 1 mois environ), à l'aide d'un modèle contenant les méthylcétone en C_5 , C_7 , C_9 et les alcools secondaires en C_7 , C_9 , de l'acide butyrique et des quantités variables d'octène-1 ol-3 nous ont permis de mettre en évidence l'importance de cet alcool insaturé dans l'arôme de Camembert. Pratiquement, sachant que les méthylcétone en C_5 , C_7 , C_9 sont plus ou moins interchangeables, et que les alcools secondaires en C_7 et C_9 ne contribuent pas de manière fondamentale à l'arôme, les essais ont montré qu'il était possible, à l'aide d'octène-1 ol-3, de couvrir partiellement la note « bleu » due principalement aux méthylcétone [7]. Pour des teneurs de l'ordre de 5 à 10 ppm dans la base fromage fondu, nous avons obtenu une flaveur se rapprochant de celle du Camembert mûr.

En plus de ceux mentionnés dans le tableau 1, nous avons détecté par spectrométrie de masse les constituants mineurs (traces) suivants :

- phénol, p-crésol, p-éthylphénol,
- γ -nonalactone, δ -décalactone, δ -dodécalactone,
- les hydrocarbures supérieurs tels que penta, hepta et nonadécane. Ces derniers ont été trouvés déjà par d'autres auteurs [8] dans le lait.

Les résultats du tableau 2 montrent l'influence de l'état de maturation sur les constituants volatils de l'arôme du Camembert. De manière générale, le Camembert jeune se distingue par la présence des méthylcétone homologues inférieures (surtout acétone) de celles trouvées dans le Camembert mûr. De même, les teneurs en alcools secondaires saturés sont comparativement très petites. Le faible degré de formation de la croûte se manifeste par des teneurs réduites en octène-1 ol-3 dans le Camembert jeune. Dès lors, la mesure directe de ce constituant devrait permettre de suivre le degré d'évolution du Camembert.

En conclusion, les constituants neutres volatils de base des arômes de Roquefort et de Camembert appartiennent aux mêmes séries homologues. Des différences dans les quantités respectives

de ces constituants ne sont probablement pas aussi importantes qu'on pourrait le penser. En effet, certains de ces composés sont plus ou moins interchangeables (méthylcétones), d'autres ne jouent qu'un rôle mineur (alcools secondaires saturés). Une grande différence réside dans les quantités relatives d'octène-1 ol-3, probablement d'origine fongique. Enfin, le fait que le Roquefort soit fabriqué à partir de lait de brebis et le Camembert avec du lait de vache, ne semble pas avoir une très grande importance au point de vue des constituants volatils des arômes de ces deux fromages.

Remerciements

Nous remercions Mlles A. M. Doeblin, D. Keller, S. Lederman et E. Schmidt ainsi que M. K. Rolli et ses collaborateurs pour leur assistance technique. Nous remercions aussi Mlle N. Daget et son groupe qui nous a fourni son aide pour les études de métrologie sensorielle.

Nous avons apprécié tout particulièrement la contribution de M. J. Sotek à la mise au point d'une méthode nouvelle de dépouillement des chromatogrammes par ordinateur [9].

Reçu pour publication le 27 juillet 1973.

Résumé

La publication propose une méthodologie d'isolement, d'enrichissement et d'analyses des constituants volatils d'un arôme applicable surtout aux produits laitiers.

La suite des opérations décrites est contrôlable organoleptiquement et permet d'obtenir des extraits relativement concentrés en quantités suffisantes pour des analyses instrumentales détaillées (chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse).

Les études spécifiques du Roquefort et du Camembert montrent que ceux-ci sont qualitativement voisins et contiennent surtout des méthylcétones, des alcools primaires et secondaires. L'importance organoleptique des constituants trouvés est démontrée par des tests d'évaluation de mélanges d'arômes reconstitués, additionnés à une base fromage relativement neutre.

Summary

A method of isolation, concentration and analysis of volatile aroma constituents particularly applicable to milk products is presented. The extract may be organoleptically controlled for spoilage

and equilibrium at all stages of its preparation, and is sufficiently concentrated to permit a detailed instrumental analysis by gas chromatography and GC-MS.

A close similarity is observed between Camembert and Roquefort volatile aroma constituents, which are characterised in common by methyl ketones and by primary and secondary alcohols. Reconstituted mixtures, prepared on the basis of the analytical results and incorporated on to a neutral cheese base, have been used to demonstrate the relative organoleptical importance of the natural aroma constituents described.

Références bibliographiques

- [1] WEURMAN (C.) (1969). — *J. Agr. Food. Chem.*, 17, 370.
 - [2] MOINAS (M.) (1973). — *Mitt. Lebensmitteluntersuch. u. Hyg.*, 64 (1), 60.
 - [3] MAARSE (H.) (1971). — Thèse, Université de Groningue (Pays-Bas).
 - [4] SCHWARTZ (D. P.) and PARKS (O. W.) (1963). — *J. Dairy Sci.*, 46, 1136.
 - [5] PATTON (S.) (1950). — *J. Dairy Sci.*, 33, 680.
 - [6] VAN DUIN (H.) (1967). — « Aromastoffe in Milch und Milchprodukte » dans « Aroma -und Geschmacksstoffe in Lebensmitteln ». Cours de perfectionnement donné les 4 et 5 avril 1967 à l'Institut d'Agronomie de l'Ecole Polytechnique Fédérale de Zürich. J. Solms et H. Neukom (Editeurs) Forster Verlag AG, Zürich.
 - [7] PATTON (S.) (1951). — *Food Eng.*, 23 (12), 93, 157-159.
 - [8] RISTON (R.) und WERNER (H.) (1968). — *Fette Seifen Anstr.*, 70, 273.
 - [9] MOINAS (M.) et SOTEK (J.). — En préparation.
-