Composés volatils du fromage entier et du fromage râpé : exemple du Parmesan

par

J. P. DUMONT, Sylviane ROGER et J. ADDA

*Station Centrale de Recherches Laitières
et de Technologie des Produits Animaux, C.N.R.Z. - 78350 Jouy-en-Josas*

I. — INTRODUCTION

Il existe au moins deux façons de consommer le fromage : On peut le déguster sous sa forme traditionnelle au cours d'un repas mais on peut également l'utiliser comme condiment dans diverses préparations culinaires.

Les fromages qui se prêtent le mieux à ce deuxième mode d'utilisation sont ceux qui, tels les fromages à pâte cuite (Parmesan, Emmental, Comté) se râpent facilement.

Jusqu'à présent l'Emmental et le Comté sont le plus souvent râpés chez le détaillant ou même par la ménagère juste avant l'emploi. Mais de plus en plus fréquemment ce type de fromage râpé est proposé au consommateur sous forme préemballée, surtout dans les magasins à grande surface ou appartenant à une chaîne de distribution. Cette forme de présentation qui n'est pas encore généralisée pour les fromages de notre production nationale, est beaucoup plus répandue, et depuis assez longtemps, pour le Parmesan.

Persuadés que la vente de fromage râpé préemballé est appelée à se généraliser, il nous a semblé intéressant d'étudier la stabilité des produits volatils responsables de l'arôme en comparant deux échantillons, l'un râpé au moment de l'expérience, l'autre vendu râpé sous sachet. L'antériorité de la vente du Parmesan râpé sous sa forme préemballée nous a incité à prendre ce fromage pour exemple, d'autant que la technique de conditionnement est parfaitement décrite [8]. La meule de fromage est réduite en poudre dans un broyeur. Cette poudre est ensuite séchée à une température de l'ordre de 50° C, pendant 24 h dans un four balayé par un courant d'air chaud et sec. A l'issue de ce séchage, la teneur en eau du produit n'atteint plus que 3 p. 100. La poudre est alors répartie en sachets hermétiquement scellés afin d'éviter toute reprise d'humidité qui serait entre autres préjudiciable à la coloration du produit.

II. — MATERIEL ET METHODES

A) ECHANTILLONS

Les échantillons de fromages étudiés qui nous ont été fournis par un industriel portaient l'appellation « Parmigiano Reggiano ». Ils provenaient tous de la même meule et avaient été conditionnés par le producteur sous la présentation qu'il utilise habituellement, c'est-à-dire en portions de 250 g sous papier aluminium pour le fromage non râpé et en sachets formés d'un complexe plastique aluminium pour le fromage râpé. Dès réception, les échantillons ont été placés au congélateur et conservés à -30°C dans leur emballage originel jusqu'au moment de l'analyse.

B) ISOLEMENT DES PRODUITS D'AROME

1) Composés neutres

Un échantillon de fromage de 100 g environ est soumis, après avoir été le cas échéant râpé, à une distillation sous vide poussé suivant la technique que nous résumons brièvement ici.

Le fromage est placé dans un ballon de 3 l relié à un groupe de pompage (Leybold PD 400) par l'intermédiaire d'une série de pièges. Le ballon contenant l'échantillon est tout d'abord placé dans l'azote liquide. Après évaporation des gaz permanents les pièges sont refroidis par de l'azote liquide tandis que le ballon est réchauffé par immersion dans de l'eau maintenue à 30°C .

Lorsque la pression atteint 10^{-2} torr, la fermeture du robinet 2 (fig. 1) assure un pompage en circuit fermé : l'eau et les produits volatils contenus dans le fromage se subliment et vont se condenser

fig. 1

Système utilisé pour effectuer la distillation sous vide poussé des échantillons de fromage

dans les pièges refroidis. Le vide est entretenu par l'ouverture occasionnelle du robinet 2.

Après une période de pompage de plusieurs heures, le contenu des différents pièges est réuni et amené à pH 9,0 par addition de soude normale. Les composés neutres sont alors extraits à l'éther éthylique purifié.

Les extraits étherés sont déshydratés au moyen de sulfate de sodium anhydre puis réduits à un volume de quelques ml par distillation sous colonne de Vigreux. Ces quelques ml sont ensuite ramenés à un volume de 2 à 300 μ l par distillation sous microcolonne remplie d'anneaux Hélipak Podbielniak.

L'extrait est alors prêt pour l'analyse chromatographique.

2) Composés acides

Nous avons utilisé avec quelques modifications la technique de chromatographie sur colonne décrite par Nieuwenhof [11]. Les acides gras libres présents dans la matière grasse extraite par l'éther éthylique sont fixés sur une colonne d'acide silicique imprégnée d'une solution de potasse dans l'isopropanol. Après élution des lipides, les acides gras libres sont libérés grâce à l'utilisation d'un mélange éther éthylique-acide formique (2 p. 100 [v/v]). L'éluat est concentré, puis injecté sur une colonne de chromatographie en phase gazeuse.

Le degré de lipolyse a été estimé en titrant l'acidité libre de la matière grasse obtenue par centrifugation par une solution alcaline décinnormale.

3) Dosage des composés carbonyles

Les composés carbonyles présents dans la fraction lipidique du fromage sont isolés par passage sur une colonne d'acide silicique imprégnée d'une solution acide de 2-4 dinitrophényl hydrazine [12]. Les 2-4 dinitrophényl hydrazones formées sont ensuite séparées de la matière grasse et fractionnées par adsorption sur magnésie activée et alumine désactivée. Les composés monocarbonyles sont alors dosés par colorimétrie.

C) ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Les analyses ont été effectuées sur un appareil Girdel 3 000, à détecteur à ionisation de flamme équipé de colonnes en acier inoxydable de 1/8 de pouce de diamètre externe.

Lors de l'analyse des produits neutres, on utilise une colonne d'une longueur de 3 m, remplie de chromosorb G (60-80 mesh) AW-DMCS, imprégné de 5 p. 100 de Carbowax 20 M-TPA (Applied Sciences) purifié par nos soins, et la température du four augmente de façon

linéaire à raison de 2°C par minute de 50 à 165°C après une période isotherme de 10 mn à 50°C .

Dans le cas des produits acides on utilise une colonne de $1,5\text{ m}$ remplie de chromosorb WAW DMCS 80-100 mesh, imprégné de $7,5\text{ p. }100$ d'adipate d'éthylène glycol et de $2\text{ p. }100$ d'acide phosphorique. Au cours de l'analyse la température augmente de 75 à 175°C à raison de $1,5^{\circ}\text{C}$ par minute.

Cette première analyse permet de juger de la richesse de l'extrait en composés volatils.

fig. 2

Composés neutres du Parmesan initial
(séparation réalisée sur SE-30)

Une seconde analyse est effectuée sur un appareil Girdel 75 CD PT modifié de façon à obtenir le tracé de la détection par ionisation de flamme tout en évaluant simultanément l'intensité et la qualité olfactive des différents composés séparés en sortie de colonne ; (cette modification permet éventuellement le piégeage de différentes fractions). Les odeurs sont décrites en utilisant le vocabulaire proposé par Harper [4] qui se réduit à 44 termes de base. Dans certains cas toutefois il a semblé préférable d'utiliser des termes qui nous ont paru mieux décrire l'impression ressentie.

D) IDENTIFICATION DES COMPOSES

Les extraits neutres ont été analysés sur un appareil Girdel 3 000 couplé à un spectrophotomètre de masse à faible résolution (AEI MS 20 organique) par l'intermédiaire d'un séparateur à membrane. La séparation chromatographique a été réalisée sur deux colonnes de polarités différentes :

- Carbowax 20 M-TPA, 3 m, 5 p.100 chromosorb G-AW-DMCS 60-80.
- SE-30, 3 m, 10 p.100 chromosorb W H MDS 80-100.

Les spectres sont enregistrés à 70 eV. La température du séparateur qui est de 40° C au début de l'analyse est augmentée tout au long de la séparation chromatographique de façon à toujours rester de 20 à 30° C inférieure à celle de la colonne. Les spectres sont identifiés en ayant recours aux données publiées par Cornu et Massot [3].

Les composés acides ont été identifiés par comparaison de leurs temps de rétention avec ceux de composés de référence.

III. — RESULTATS ET DISCUSSION

a) Produits dits neutres

Les résultats relatifs au dosage colorimétrique des composés carbonyles sont présentés dans le tableau 1. On constate que le pourcentage de perte de certaines de ces substances est extrêmement important.

TABLEAU 1

Comparaison des quantités de composés carbonyles présents
dans les deux échantillons
(résultats exprimés en μ moles par g de fromage)

	Parmesan entier	Parmesan râpé	p. 100 de pertes*
Carbonyles totaux	2,26	1,41	56
Carbonyles + Cétoglycérides	1,39	0,90	55
Monocarbonyles	0,20	0,08	70

* Calculé en ramenant les résultats obtenus pour le Parmesan râpé à 1 g de Parmesan frais.

Le tableau 2 regroupe les résultats obtenus par chromatographie en phase gazeuse et par spectrométrie de masse, en utilisant une colonne de type SE-30.

Une estimation de la quantité des composés présents dans les extraits a été faite en utilisant une échelle à 5 points.

L'examen de ce tableau permet de mettre en évidence plusieurs faits saillants. On constate tout d'abord que le produit râpé contient un certain nombre d'aldéhydes (Pentanal, 2-méthyl-2-butenal, hexanal) que l'on ne rencontre pas dans le fromage initial. Ceci peut être interprété comme un signe d'oxydation de la matière grasse et montre que le butylhydroxytoluène (B.H.T.) que l'on trouve dans le fromage râpé et qui a sans doute été ajouté à dessein comme antioxygène, n'a pas permis d'éviter totalement l'oxydation.

fig. 3

Composés neutres du Parmesan râpé
(séparation réalisée sur SE-30)

On peut voir ensuite que les esters éthyliques présents en quantités relativement importantes dans le fromage initial, ont, soit totalement disparu (cas du butanoate d'éthyle), soit fortement diminué (cas de l'hexanoate d'éthyle) dans le fromage râpé. Cette disparition

TABLEAU 2

Comparaison des produits volatils isolés dans les deux types d'échantillons

Pic n°	Spectre masse	Identité	Quantités présentes dans		Appréciation olfactive
			P. entier	P. râpé	
1	+	Propanol	++	++	alcool-butanol*
2	+	Acétate d'éthyle	+++	+++	
3	—			+	
4	+	Pentanal		+	
5	+	2-pentanone		+	
6	+	Butanol	+++	+	
7	+	2-méthyl-2-butenal		tr.	
8	+	Toluène		+	huileux et vert pomme* pommes de terre bouillies* métallique et huileux piquant diacétyle résineux puis 2-heptanone poisson puis floral
9	+	Hexanal		++	
10	+	Butanoate d'éthyle	+++	tr.	
11	+	m/e 44.72.43.42.41.29.98.113	+	++	
12	—			tr.	
13	+	Ethylbenzène		+	
14	—			tr.	
15	+	2-heptanone	++	++	métallique pommes de terre bouillies* « butane »* pommes de terre bouillies* fleur d'oranger* poivré
16	+	probablement aldéhyde m/e à 44.42.70		++	
17	+	2-heptanol	+	+	
18	+	Diméthylpyrazine ?		tr.	
19	+	m/e 57.43.99		+	
20	+	Tetraméthylpentane		++	
21	+	m/e 91-98		tr.	
22	+	m/e 105.77.51.106.120		+	métal. fruité (éthéré)
23	—			tr.	
24	+	H.A.S. M. 142		+++	
25	+	H.A.S.		++	
26	—			tr.	
27	+	Hexanoate d'éthyle	++++	++	
28	+	Sp. inex.		+	

29	+	H.A.S. à chaîne ramifiée		+	amande
30	+	id.		+++	
31	+	id.		+++	
32	+	id.		+++	
33	+	id.		+++	
34	+	2-nonanone	++	+++	piquant
35	+	H.A.S. m/e 57.43.71.56.41		++	fleur d'oranger*
36	+	2-nonanol	+	+	
37	+	Sp. inex.		tr.	
38	—			tr.	pommes de terre bouillies*
39	—			+	
40	+	Naphtalène		tr.	antimite
41	+	Octanoate d'éthyle	+++	++	éthéré et piquant
42	+	Sp. inex.		+	brûlé
43	+	m/e 55.41		+	
44	+	Sp. inex.		+	poivré
45	+	2-undecanone	++	++	cétone (métal.* et piquant*)
46	+			+	poivré
47	+	m/e 55.41.69	+	+	vert
48	+	Decanoate d'éthyle	++	++	fruité (éthéré)
49	+	m/e 43.57.71.85		+	
50	—			tr.	
51	+	m/e 43.57.71.85		+	
52	+	2-tridecanone	+	+	cétone
53	+	B.H.T.		++++	fruité (peau de banane)
54	+	Dodecanoate d'éthyle	+	+	fruité
a	+	2-pentanol	++		
b	+	?	++		
c	+	Pyridine	+		
d	+	Hexanol	tr.		
e	+	Méthoxybenzaldéhyde ?	+		
f	+	m/e 45.73.57.101.29	+		
g	+	m/e 99.45	+		
h	+	Dibutylmaléate	+		

* Termes ne figurant pas dans le vocabulaire des « qualités de l'odeur » de Harper [4, 5].

H.A.S. : hydrocarbure aliphatique saturé.

Sp. Inex : spectre inexploitable (le plus souvent à cause d'un mélange de composés).

tr. : traces.

+ : | composé mineur quantitativement. |

++ : | composé moyen quantitativement. |

+++ : | composé important quantitativement. |

++++ : | composé majeur quantitativement. |

MÉMOIRES ORIGINAUX

393

des esters s'explique facilement par leur volatilité et permet aussi de comprendre pourquoi à la dégustation, le fromage râpé ne possède plus la note fruitée, très prononcée et très plaisante, qui caractérise le fromage en meule [1] et que l'on trouvait dans l'échantillon initial. Le rôle des esters éthyliques d'acides gras, dans cette note fruitée (considérée comme un défaut dans le Cheddar), a été soulignée par Bills *et al.* [2].

Les méthylcétones se retrouvent en quantités équivalentes dans les deux échantillons ; pourtant il s'agit là de substances volatiles. On peut expliquer cette anomalie apparente par le fait que les méthylcétones sont susceptibles de se former spontanément par action de la chaleur en présence d'eau même à l'état de traces [6] sur les cétoacides qui peuvent représenter jusqu'à 4 p. 100 des acides gras totaux de la matière grasse butyrique. Les conditions d'une telle transformation sont évidemment remplies pendant la phase de séchage.

Cette relative constance des méthylcétones peut sembler en contradiction avec les résultats du tableau 1 où nous avons montré une perte importante (en pourcentage), en particulier dans le cas des composés monocarbonylés. On peut toutefois concilier les deux observations en admettant que les composés monocarbonylés qui ont disparu sont des composés non volatils mais thermolabiles ou très instables qui disparaissent aussi au cours du séchage et au cours des opérations de distillation.

Parmi les composés appartenant à d'autres classes, certains mis en évidence dans le fromage entier, ne l'ont pas été dans le fromage râpé (pics repérés de « a » à « h »). Cependant, ces composés sont généralement présents à l'état de traces et peuvent fort bien avoir été masqués par les composés apparus dans le cas du fromage râpé.

On peut enfin noter dans le fromage râpé la présence d'hydrocarbures aliphatiques à chaîne droite ou ramifiée de masse 142 (pics 20, 29 à 33, 35). Des hydrocarbures aliphatiques ont bien été signalés, dans l'Emmental par exemple [9], et les schémas d'autoxydation des acides polyinsaturés laissent prévoir l'apparition d'hydrocarbures [7] mais la nature des hydrocarbures et les quantités présentes dans l'échantillon de fromage râpé sont telles qu'il faut plutôt envisager une contamination survenant au cours du séchage.

b) Acides gras libres

Les résultats obtenus par chromatographie en phase gazeuse confirment ceux publiés antérieurement [10]. La mesure de l'acidité libre montre que la matière grasse du fromage râpé est plus fortement lipolysée que celle du fromage en meule (1,6 ml NaOH 0,1 N/g M.G. contre 0,8).

CONCLUSION

Les résultats présentés ci-dessus n'ont certes pas un caractère de généralité mais ils peuvent néanmoins expliquer dans une certaine mesure la baisse de qualité organoleptique des fromages râpés longtemps avant leur utilisation en cuisine. Outre la distorsion de l'arôme due à la disparition des produits les plus volatils, (phénomène très marqué ici du fait du séchage mais qui doit se produire dans tous les cas peut être à un degré moindre), on peut à bon droit redouter que le phénomène d'oxydation soit présent dans tous les cas et que ce phénomène soit particulièrement difficile à éviter, les palliatifs envisageables (conditionnement sous azote) ne pouvant avoir qu'une faible efficacité.

La disparition des produits volatils et l'apparition des produits d'oxydation peuvent poser un problème de qualité dans le cas où le fromage râpé est utilisé en l'état mais devrait être moins gênante lorsqu'il est utilisé dans des préparations culinaires fortement chauffées dans lesquelles apparaissent certainement de nouveaux produits dont la nature reste à déterminer. La formation de ces produits au cours du « gratinage » fera l'objet d'une prochaine publication.

Résumé

On a comparé les produits volatils présents dans un Parmesan en meule et le fromage râpé provenant de la même meule conditionné sous sachet. On constate que le produit râpé contient des aldéhydes absentes du produit initial mais que les esters éthyliques responsables de la saveur fruitée caractéristique du Parmesan ont disparu.

Summary

The volatile compounds responsible for the aroma of Parmesan cheese has been studied both in block and grated cheese, the latter lacking of pleasant fruity flavour which was characteristic of the former. GC-MS analysis showed some trace of oxidation in the grated cheese and the disparition of ethyl esters.

Reçu pour publication le 5 avril 1974.

Références

- [1] ANDROUET (P.) (1971). — *Guide du fromage, Stock.*
 - [2] BILLS (D. D.), MORGAN (M. E.), LIBBEY (L. M.) and DAY (E. A.) (1965). — Identification of the compounds responsible for the fruity flavor defect of some experimental Cheddar cheeses. *J. Dairy Sci.*, 48, 1168-1173.
 - [3] CORNU (A.) et MASSOT (R.) (1966). — Index de spectres de masse. *Presses Universitaires de France.*
 - [4] HARPER (R.), BATE SMITH (E. C.), LAND (D. G.) and GRIFFITHS (N. M.) (1968). — A glossary of odour stimuli and their qualities. *Perf. and Ess. 0.1. Records*, 59, 22.
 - [5] HARPER (R.), LAND (D. G.) and GRIFFITHS (N. M.) (1968). — Odour qualities : A glossary of usage. *Br. J. Psychol.*, 59, (3), 231.
 - [6] HAWKE (J. C.) (1966). — The formation and metabolism of methylketones and related compounds. *J. Dairy Res.*, 33, 225-243.
 - [7] HORVAT et al. (1964). — Cités par BADINGS (H. T.). Cold storage defects in butter and their relation to the autoxidation of unsaturated fatty acids. *Thèse 1970.*
 - [8] KOSIKOWSKI (F.) (1966). — Cheese and fermented milk foods, p. 193. Edwards Brothers Inc. Ann Arbor, Michigan.
 - [9] LANGLER (J. E.), LIBBEY (L. M.) and DAY (E. A.) (1967). — Identification and evaluation of selected compounds in Swiss cheese flavor. *J. Agr. Food Chem.*, 15, (3), 386.
 - [10] LOSI (G.), CAPELLA (P.), PALLOTTA (U.) (1968). — Gli acidi grassi liberi nel formaggio « Parmigiano-Reggiano ». *Industri Agrarie*, VI, Maggio 1968, 283-290.
 - [11] NIEUWENHOF (F. F. J.) and HUP (G.) (1971). — Gas chromatographic determination of free fatty acids in cheese. *Neth Dairy J.*, 25, 175-182.
 - [12] SCHWARTZ (D. P.), HALLER (H. S.) and KEENEY (M.) (1963). — Direct quantitative isolation of monocarbonyl compounds from fats and oil. *Anal. Chem.*, 35, 2191.
-