Étude des composés neutres volatils présents dans le Camembert

par

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

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

I. — INTRODUCTION

A ce jour peu de travaux ont été consacrés à l'étude des composants volatils responsables de l'arôme du Camembert. De plus, comme il apparaît dans une revue bibliographique récente [1], les études réalisées ont porté presque exclusivement sur les acides gras volatils. Les composés neutres n'ont fait l'objet que de rares études. Dans l'une d'entre elles, les auteurs [2] dosent par colorimétrie les méthylcétones dans trois échantillons d'origine différente. Dans une autre plus récente [3] Moinas et *al.* établissent une comparaison entre fromages jeunes et affinés, après avoir réalisé l'isolement des constituants volatils par entraînement sous pression réduite à l'aide d'un gaz inerte. Ils mettent ainsi en évidence un certain nombre de substances (méthylcétones, alcools, composés phénoliques) et attribuent un rôle tout particulier à l'une d'entre elles : l'octène-1-ol-3. Ce composé, ajouté à un fromage fondu, permettrait d'obtenir une flaveur se rapprochant de celle du Camembert.

Dans le cadre de notre travail sur les composés neutres responsables des fromages à pâte molle, dont les premiers résultats ont paru récemment [4], nous avons étudié, à l'aide d'une méthode d'isolement toute différente, les composés neutres volatils d'une série d'échantillons de Camembert. Les résultats obtenus ne diffèrent pas fondamentalement de ceux présentés par Moinas et *al.* [3] mais apportent des correctifs et des compléments sur un certain nombre de points.

II. — MATERIEL ET METHODES

a) Les fromages

Les échantillons numérotés de 1 à 11 ont été achetés dans le commerce. Il s'agissait d'échantillons de Camembert normand à

45 p.100 de matière grasse qui présentaient, les uns par rapport aux autres, des degrés de maturité variables.

Les échantillons 1 et 2 étaient « très peu faits », les échantillons 3 à 7 « faits à cœur », l'échantillon 8 surmaturé, les échantillons 9 à 11 de même origine étaient garantis « fabriqués au lait cru et moulés à la louche » ; ils présentaient des degrés de maturité différents, le 9 étant « peu fait », le 10 « bien fait » et le 11 « très fait ». Tous ces fromages exempts de défauts organoleptiques possédaient un arôme caractéristique. L'échantillon 12 qui nous a été fourni par un industriel était « peu fait » mais présentait un défaut d'arôme caractérisé par un goût de champignon très prononcé.

b) Extraction

Après avoir été congelés, les fromages sont râpés sans être écroutés. Un échantillon de 125 g environ est soumis à une distillation sous vide poussé suivant une technique précédemment décrite [5].

c) Analyse chromatographique

Les analyses ont été effectuées sur un appareil Girdel 3000, à détecteur à ionisation de flamme équipé d'une colonne en acier inoxydable de 3 m de long et de 1/8 de pouce de diamètre externe 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. La température du four augmente de façon linéaire à raison de 2° C par mn de 50° C à 165° C après une période isotherme de 10 mn à 50° C. Cette première analyse permet de juger de la richesse de l'extrait en composés volatils. Cette analyse préliminaire a également été réalisée sur une colonne de 3 m de long remplie de chromosorb W-80/100 imprégné de 10 p.100 de silicone SF 96, chauffée de 30° C à 180° C à raison de 1,5° C par mn.

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).

d) Spectrométrie de masse

Les extraits sont analysés sur un appareil Girdel 3000 couplé à un spectromètre de masse à faible résolution (AEI MS 20 organique).

La séparation chromatographique est réalisée sur une colonne capillaire d'une longueur de 100 m et d'un diamètre intérieur de 1 mm, préparée par nos soins en utilisant comme phase stationnaire

un mélange de Silicone SF 96 et d'Igepal CO-880 dans les proportions 95:5. Le gaz vecteur est l'hélium qui circule à un débit de 5 ml/mn. La température est programmée de 30° C à 140° C à raison de 1° C/mn après une période isotherme de 10 mn à 30° C. Les spectres sont enregistrés à 70 eV et identifiés en ayant recours aux données publiées par Cornu et Massot [6].

III. — RESULTATS

Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux 1 à 7. Il est indiqué pour chaque échantillon la nature du lait de fabrication (cru noté « C » ou pasteurisé noté « P ») ainsi que le degré d'affinage (évalué dans l'ordre croissant de 1 à 3).

La note 1 correspond à un fromage blanc à la coupe (non affiné), la note 2 indique un fromage « fait » ou « bien fait » et la note 3 un fromage « très fait ».

Pour chaque échantillon, l'importance quantitative relative des composés identifiés a été indiquée au moyen d'une échelle de cotation en 4 points (+ à ++++). La note ++++ signifie que le pic considéré est le pic majeur du chromatogramme correspondant. Les composés décelables en spectrométrie de masse, sans pour autant donner un pic mesurable, ont été affectés de la note « tr » (traces).

Il faut signaler que cette notation ne permet pas de rendre compte des différences existant entre les échantillons au point de vue des quantités absolues de produits volatils présents. C'est pourquoi nous présentons (fig. 1) trois chromatogrammes obtenus à partir des échantillons 9, 10 et 11, réalisés en injectant un volume d'extrait correspondant à un poids constant de fromage.

IV. — DISCUSSION

Le tableau 1 présente les résultats relatifs aux alcools aliphatiques. En ce qui concerne les alcools primaires, il apparaît que le 3-méthyl-1-butanol est toujours présent en quantités relativement importantes, ce qui montre que sur ce point le Camembert ne se différencie guère des autres types de fromages à pâte molle déjà étudiés [4, 7]. Les alcools secondaires, toujours abondants dans l'échantillon sont représentés principalement par le 2-heptanol et le 2-nonanol. Il faut noter que le 2-pentanol n'apparaît en quantités appréciables que dans un échantillon très affiné, ce qui est en contradiction avec les résultats de Moinas et *al.*

L'oct-1-en-3-ol est présent en quantités notables dans la plupart des échantillons étudiés, même dans les moins affinés (éch. 1 et 2).

fig. 1 (a)

fig. 1 (b)

fig. 1 (a, b, c)

Profils obtenus à partir des échantillons 9, 10, 11

Colonne : 3 m 1/8 - Chromosorb G - AW - DMCS - 80-100 - 5 p. 100 C 20 M - TPA - 45 → 165° C ; 1,5° C/mn.

Quantité injectée équivalente à 1,5 g de fromage :

(1. 2 heptanone, 2. 2 heptanol, 3. 2 nonanone, 4. 2 nonénone, 5. 2 nonanol, 6. Acétate de 2 Phényléthanol.

Profil obtenu à partir de l'échantillon 11
Colonne : 3 m 1/8 - Chromosorb W H.P. - 10 p. 100 SF 96 - 30 → 180° C ; 1,5° C/mn.

TABLEAU 1. — Alcools aliphatiques

[illegible]

Il est particulièrement abondant dans l'échantillon 12, fromage qui présentait un défaut d'arôme qualifié de « goût de champignon ».

Contrairement à ce qui se passe pour d'autres composés, l'affinage prolongé des fromages n'entraîne pas d'augmentation sensible des quantités d'oct-1-en-3-ol. On remarquera même qu'il n'a pas été possible de le mettre en évidence dans les échantillons 8 et 11, tous deux très affinés. Il se pourrait qu'il ait été masqué lors de l'analyse par les nombreuses substances à temps de rétention très voisins qui sont présentés dans ces échantillons.

L'oct-1-en-3-ol est un composé qui est connu pour son goût de champignon. Il est assez répandu dans la nature (il a été signalé notamment dans le cacao, le café et le champignon de Paris, etc.). Les travaux de Stark et Forss [8], ont démontré qu'il s'agissait d'un composé résultant de l'oxydation de la matière grasse. Il semble d'autre part que son apparition dans les céréales qui fermentent au cours du stockage coïncide souvent avec le développement de *Penicillium* [9]. On peut donc penser que l'oct-1-en-3-ol serait un métabolite du *Penicillium caseicolum* qui pousse à la surface du fromage et qui apporterait, compte tenu de son seuil de perception faible (0,01 ppm), une « touche » assez caractéristique à l'arôme du Camembert mais qui, présent en trop fortes quantités, serait responsable de défauts d'arôme.

Le tableau 2 présente les résultats relatifs aux cétones et aux aldéhydes.

Il apparaît que les méthylcétones sont de loin les composés les plus abondants et tout particulièrement la 2-nonanone. Dans l'ensemble, ces résultats sont en accord avec ceux présentés par d'autres auteurs [2, 3]. Ils s'en distinguent cependant en ce qui concerne la 2-tridécanone qui dans nos extraits est en quantités relatives bien supérieures à celles indiquées par Schwartz et Parks [2]. Il est probable que cette distorsion tient pour une part au fait que la méthode d'extraction que nous utilisons permet d'obtenir un fort pourcentage de récupération pour les composés à longue chaîne.

Dans l'ensemble, la quantité de 2-nonanone croît régulièrement au cours de l'affinage, il en est de même pour la 2-undécane. La 2-heptanone connaît une évolution similaire mais beaucoup moins marquée. Les méthylcétones à nombre pair d'atomes de carbone, à l'exception de la 2-butanone, n'apparaissent que plus tardivement et ne sont jamais présentes en quantités importantes sauf dans les fromages très affinés. Il en est de même pour les méthylcétones insaturées (2-nonénone et 2-undécénone) dont la présence n'avait jusqu'à présent été signalée que dans des fromages de type Bleu [10].

Les fromages fabriqués avec du lait cru présentent la particularité d'être plus riches en méthylcétones à nombre pair d'atomes de carbone et de renfermer des méthylcétones ramifiées.

TABLEAU 2. — Cétones et aldéhydes aliphatiques

Echantillon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Nature du lait Etat de maturité	P 1	P 1	P 2	P 2	P 2	P 2	P 2	P 3	C 1	C 2	C 3	P 1
2-butanone						+		tr		tr		
2-pentanone	tr	tr				tr	tr	+		+	+	tr
4-méthyl-2-pentanone										tr	+	
3-méthyl-2-pentanone								+		tr	+	
2-hexanone							tr	tr		tr	tr	
méthyl-2-hexanone										tr	+	
2-heptanone	++	+	++	+	+	++	++	+++	+	+++	+++	++
2-octanone						tr		+		++	++	
2-nonanone	+++	+++	+++	+++	++	++++	+++	++++	+++	++++	++++	+++
2-decanone			tr		tr	tr		++		+++	++	
2-undecanone	++	+++	+++	++	+	+++	+++	++++	+++	+++	+++	++++
2-dodecanone										++	+	
2-tridecanone		++	++	+	+++	++		++	+++	++		+
3-octanone									tr	+	tr	
Nonène-2-one	tr	+	+			++		+++	++	+++	+++	++
Undécène-2-one								+++		++	++	+
Hexanal			+		tr	tr						+
Heptanal	tr	tr				tr						
Nonanal		tr										
2-méthyl-1-butanal								tr		tr	tr	
3-méthyl-1-butanal								++		++	+	

Le tableau 3 présente les esters aliphatiques. Les résultats sont conformes à la logique dans la mesure où les esters identifiés correspondent à des acides et des alcools déjà mis en évidence dans le Camembert. Notons cependant qu'il n'est pas possible d'exclure l'hypothèse selon laquelle l'acétate d'éthyle serait, au moins en partie, un contaminant provenant du solvant.

Le tableau 4 concerne les composés aromatiques. Le fait le plus marquant réside dans la présence constante du 2-phényl éthanol et de l'un de ses esters (l'acétate de 2-phényl éthanol) en quantités importantes. L'étude des échantillons peu affinés permet de constater que l'acétate de 2-phényl éthanol apparaît très tôt au cours de la maturation du fromage et qu'il constitue, lors des premiers stades, le composé volatil le plus abondant (fig. 1). L'établissement du rapport Acétate de 2-phényl éthanol/2-nonanone montre que la valeur de ce rapport passe de 6 pour un fromage « peu fait » (échantillon 9) à 1 environ pour des fromages « très faits » (échantillons 8 ou 11). Ce tableau 4 met également en valeur l'abondance des hydrocarbures benzéniques (présents, il est vrai le plus souvent, à l'état de traces). De nombreux composés benzéniques ont déjà été signalés dans des fromages de type Bleu [11] où ils sont considérés comme importants pour l'arôme. Il a été suggéré qu'ils pouvaient être synthétisés par la moisissure.

Le tableau 5 consacré aux produits soufrés montre que de façon générale les disulfures sont absents des fromages jeunes. Ceci s'explique par le fait que ces fromages peu protéolysés ne fournissent que des quantités très limitées d'acides aminés soufrés libres, précurseurs de ces disulfures.

En fin d'affinage, les composés soufrés diminuent quantitativement et disparaissent même dans certains cas.

Nous avons confirmé l'absence de disulfures dans les échantillons les plus affinés dans une étude ne portant que sur les produits soufrés dont les résultats feront l'objet d'une prochaine publication. On peut à titre d'exemple comparer la valeur de 0,06 p.p.m. (exprimée en disulfure de méthyle par rapport au poids de fromage) pour l'échantillon 3 à celle de 0,00 pour l'échantillon 11. La diminution de ces composés peut s'expliquer par leur forte volatilité.

Le tableau 6 regroupe un ensemble de composés très divers. On remarquera que l'indole qui peut être considéré dans une certaine mesure comme un témoin de la qualité hygiénique du lait n'est pas plus abondant dans les fromages fabriqués avec du lait cru que dans les autres échantillons. Les autres composés mentionnés n'offrent qu'un intérêt documentaire dans la mesure où leur présence est occasionnelle. On peut simplement noter la présence de quelques terpènes dont l'origine reste à expliquer.

TABLEAU 3. — Esters aliphatiques

[illegible]

TABLEAU 4. — Composés aromatiques

Echantillon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Nature du lait	P	P	P	P	P	P	P	P	C	C	C	P
Etat de maturité	1	1	2	2	2	2	2	3	1	2	3	1
Benzaldéhyde	tr	tr		tr		tr						tr
Acétophénone					tr							
2-phényl éthanol	+++	++	++	++	+	++	++++	++++	++	++	++	+
β-phényl éthyl acétate	++++	+++	++++	++	+++	+	++++	++++	++++	++++	+++	+
β-phényl éthyl propanoate	+		+	+	+		++	+	++	+	+	
β-phényl éthyl butanoate			+		+		+	+		+		
Benzène				+		tr	tr	tr				+
Toluène	+	+		+	tr	tr	+	+	+	tr	tr	+
Ethyl benzène	tr	tr	tr	+	+	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Diméthyl benzène	tr	tr	tr	++	++		+	+	+		tr	tr
Ethyl méthyl benzène	tr	tr	tr	+	+	tr	tr	tr	tr	tr	tr	+
Styrène	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr		tr	tr		tr
Méthyl propyl benzène			tr									
Diéthyl benzène				tr								
Diméthyl éthyl benzène	+		+	tr	tr			tr			tr	
Triméthyl benzène	tr	tr	tr	tr	+	tr	tr	tr	tr			
Tétraméthyl benzène	tr			tr								
Naphtalène	tr	tr	+	tr	+	+		tr		+		tr
Méthyl naphtalène						tr						

TABLEAU 5. — Composés soufrés

Echantillon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Nature du lait Etat de maturité	P ₁	P ₁	P ₂	P ₂	P ₂	P ₂	P ₂	P ₃	C ₁	C ₂	C ₃	P ₁
Disulfure de méthyle			+++	+++	++++		+	+	+	+	+	
Disulfure de méthyl-éthyle		tr	++	++++	+++		tr	++		+	+	
2,3,4, trithiapentane			+		+			tr				
1,1 bis méthyl mercapto- disulfure			+		+							

TABLEAU 6. — Autres composés

Echantillon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Nature du lait Etat de maturité	P 1	P 1	P 2	P 2	P 2	P 2	P 2	P 3	C 1	C 2	C 3	P 1
Phénol			tr	tr	+++							
Ethyl phénol				tr	+							
Crésol			+	+	+	tr		+		+		
Indole		tr	+	tr	+++	+	+	++	+		tr	+
Méthyl indole				tr	tr							tr
Pyridine		tr		tr			tr			tr		+
Triméthyl pyridine		+		tr	tr	++	tr	tr		tr	tr	+
Benzothiazole						tr						+
Diméthyl pyrazine						tr					+	
Triméthyl pyrazine											tr	
δ-décalactone		++	+		+	++				++		++
Heptane						+						
Octane	tr					+						
Nonane	+		tr		+	+						+
Décane	+	+	+	+	+				+			++
Undécane	++		+						++			++
Dodécane					+					+		tr
Méthyl pentane	+									+	+	+
Méthyl cyclopentane												tr
Cyclohexane												tr

TABLEAU 7. — Composés chlorés

Echantillon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Nature du lait Etat de maturité	P ₁	P ₁	P ₂	P ₂	P ₂	P ₂	P ₂	P ₃	C ₁	C ₂	C ₃	P ₁
Chloroforme	tr		tr	tr				tr	tr	tr		
Tétrachlorure de carbone	tr											
Dichloroéthane						tr						
Trichloroéthane										tr		
Tétrachloroéthylène												
Dichlorobenzène	tr	tr	tr	tr	tr	tr		tr		tr	tr	tr
Trichlorobenzène	tr		tr		tr	tr		tr				tr

Le tableau 7 présente les composés chlorés isolés des fromages. Pour ces substances le caractère de pollution (pesticides, produits de nettoyage, contamination au laboratoire) n'est pas à exclure.

Enfin, nous devons signaler un certain nombre de composés qui n'ont pu être identifiés. L'un d'entre eux (m/e 42-98-72-41-43-83) présent dans les échantillons 9, 10 et 11 semble lié au caractère « lait cru ». D'autres sont soit présents dans la plupart des échantillons (1 à 5 et 9 à 12) (m/e 138-109-95-78-65), soit dans les échantillons 8 et 11 les plus affinés (m/e 68-67-110).

En conclusion, il apparaît que les méthylcétones et les alcools correspondants sont bien les composés neutres quantitativement majeurs de l'arôme du Camembert et ce d'autant plus que l'affinage du fromage est plus poussé. A ces composés il faut adjoindre le 2-phényl éthanol et l'acétate de 2-phényl éthanol qui représentent également une fraction importante des composés volatils isolés.

Au niveau de la compréhension des phénomènes biochimiques intervenant durant l'affinage il semble que l'étude de l'apparition des méthylcétones à nombre pair de carbone et de la cinétique de formation des produits soufrés soient à retenir.

Enfin, il faut signaler que l'oct-1-en-3-ol déjà présent dans le fromage bien avant maturité constitue probablement un composé caractéristique du fromage à croûte moisie par *Penicillium caseicolum*. Un échantillon jugé défectueux à la dégustation présentait une teneur élevée en ce composé.

Résumé

Les composés volatils de douze échantillons de Camembert, dont certains fabriqués à partir de lait cru ont été séparés puis identifiés par spectrométrie de masse. Dans tous les cas, les produits les plus importants sont les méthylcétones et les alcools correspondants. On notera également l'importance des esters du 2-phényl éthanol. De nombreuses autres substances sont mises en évidence.

Summary

The neutral volatile compounds obtained through high vacuum distillation from 12 samples of Camembert, several of which were made from raw milk, have been identified by GC-MS. In all samples methyl ketones, secondary alcohols and phenyl ethanol esters are the major constituents. Numerous other compounds have been listed.

Reçu pour publication le 19 avril 1974

Bibliographie

- [1] ADDA (J.) et DUMONT (J. P.) (1974). — Les substances responsables de l'arôme des fromages à pâte molle. *Le Lait*, 54, 531-532, 1.
 - [2] SCHWARTZ (D. P.) and PARKS (O. W.) (1963). — Methylketones in Camembert cheese. *J. Dairy Sci.*, 46, 10, 1136.
 - [3] MOINAS (M.), GROUX (M.) et HORMAN (I.) (1973). — La flaveur des fromages. 1. Une méthodologie nouvelle d'isolement de constituants volatils. Application au Roquefort et au Camembert. *Le Lait*, 53, 529-530, 601.
 - [4] DUMONT (J. P.), ROGER (Sylviane) et ADDA (J.) (1974). — Etude des composés volatils neutres présents dans les fromages à pâte molle et à croûte lavée. *Le Lait*, 54, 531-532.
 - [5] DUMONT (J. P.) et ADDA (J.) (1972). — Isolement des constituants de l'arôme des fromages : comparaison de méthodes. *Le Lait*, 52, 515-516, 311.
 - [6] CORNU (A.) et MASSOT (R.) (1966). — Index de spectres de masse. *Presses Universitaires de France*.
 - [7] DUMONT (J. P.), ROGER (Sylviane), CERF (Paule) et ADDA (J.) (1974). — Etude des composés volatils neutres présents dans le Vacherin. *Le Lait*, 54, 535-536, 243.
 - [8] STARK (W.) and FORSS (D. A.) (1964). — A compound responsible for mushroom flavour in dairy products. *J. Dairy Res.*, 31, 253.
 - [9] RICHARD-MOLLARD (D.). — Communication personnelle.
 - [10] SVENSEN (A.) and OTTESTAD (E.) (1969). — Qualitative and quantitative analysis of flavour components in Normanna chesse. *Meieriposten*, 58, (3), 50-57, (4), 77-81.
 - [11] BOYD (E. N.), PATTON (S.) and DAY (E. A.) (1967). — Cités dans : The chemistry and Physiology of flavors - Cheese flavor. SCHULTZ (H. W.), DAY (E. A.), LIBBEY (L. M.). *Avi publishing Company*.
-