

Etude des composés volatils neutres présents dans les fromages à pâte molle et à croûte lavée

par

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

Laboratoire d'Etude des Arômes, C.N.R.Z. - 78350 Jouy-en-Josas (France)

I. — INTRODUCTION

Une revue récente [1] a montré que nos connaissances sur les substances responsables de l'arôme des fromages à pâte molle étaient fort limitées bien que ces fromages aient dans notre pays une importance économique considérable. C'est pourquoi nous nous sommes efforcés dans ce premier travail de réunir quelques données sur plusieurs types de fromages à pâte molle, le Maroilles, le Livarot, le Pont-l'Évêque, l'Époisses et le Langres qui sont tous des fromages à croûte lavée préparés selon un procédé de fabrication à peu près identique, certains faisant toutefois la liaison avec les fromages à pâte molle à croûte « fleurie » (Pont-l'Évêque) qui feront l'objet d'une prochaine publication.

Notre examen a porté parmi les produits responsables de l'arôme sur la catégorie dite des produits neutres ; ce choix est en partie justifié par l'abondance des données concernant les acides gras volatils [8, 9, 10, 12] et par le manque de techniques appropriées à l'étude des amines volatiles.

II. — MATERIEL ET METHODES

a) Les fromages

Les échantillons de fromages sont tous issus de fabrications artisanales ou fermières. Ils ont été choisis parmi les lots présentant des qualités organoleptiques optimales et ont été conservés à -30°C jusqu'au moment de l'analyse.

b) Extraction

Un échantillon de fromage de 100 g environ est râpé, sans être écroûté, à l'état congelé, puis soumis à une distillation sous vide poussée suivant une 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 évacuation 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. Le robinet 2 (fig. 1) est alors fermé et on laisse l'eau contenue dans le fromage se sublimer et se condenser dans les premiers pièges. Le vide est entretenu dans le système par l'ouverture occasionnelle du robinet 2.

Après plusieurs heures de pompage on a récupéré la plus grande partie de l'eau présente initialement dans l'échantillon ainsi que les produits les plus volatils. Le résidu sec est gardé sous vide à -30°C jusqu'au lendemain. Il est alors réduit en poudre fine au moyen d'un moulin à café électrique et remis sous vide pendant 7 h dans un système comprenant un condenseur à doigt de gant (fig. 2).

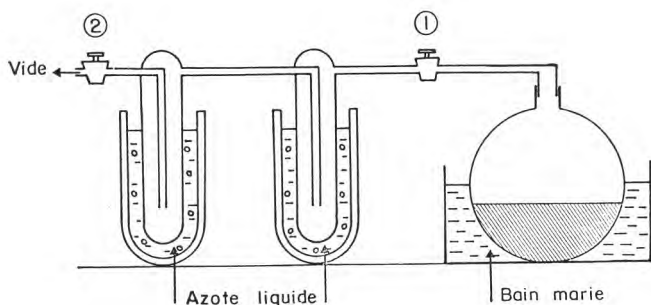


fig. 1

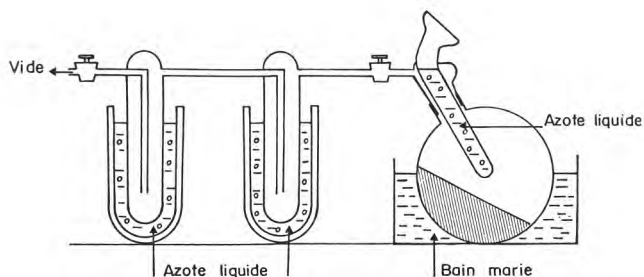


fig. 2

A l'issue de cette seconde journée de distillation, on réunit le contenu de l'ensemble des pièges. Les composés neutres sont séparés des acides par addition de soude normale jusqu'à pH 9,0 et extraction à l'éther éthylique purifié. Les extraits étherés sont deshydratés 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 micro-colonne remplie d'anneaux Hélipak Podbielniak.

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

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.

Un 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 également analysés sur un appareil Girdel 3000 couplé à un spectromètre de masse à faible résolution (AEI MS 20 organique) par l'intermédiaire d'un séparateur à membrane. La séparation chromatographique est réalisée systématiquement sur deux colonnes de polarité différente choisies parmi les colonnes suivantes :

- 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.
- FFAP, 3 m, 5 p. 100 chromosorb G - AW-DMCS 60-80.
- OV 225, 3 m, 10 p. 100 chromosorb W - AW-DMCS 60-80.

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° C à 30° C inférieure à celle de la colonne. Les spectres sont identifiés en ayant recours aux données publiées par Cornu et Massot [3].

TABLEAU 1

MAROLLES : produits identifiés par spectrométrie de masse

	C20M	SE30	Quantités
<i>Alcools</i>			
<i>Alcools primaires</i>			
Propanol	+	+	traces
2-méthyl-1-propanol	+	+	mineure
3-méthyl-1-butanol	+	+	moyenne
Phénylméthanol	+	?	mineure
2-phényl éthanol	+	+	majeure
<i>Alcools secondaires</i>			
2-butanol	+		mineure
2-pentanol		+	mineure
2-heptanol	+	+	mineure
2-phényl-éthane-2-ol	+	?	mineure
<i>Cétones</i>			
2-butanone		+	mineure
2-pentanone	+	+	mineure
2-heptanone	+	+	moyenne
2-nonanone	+	+	importante
2-undecanone	+		moyenne
2-tridecanone		+	importante
Acétophénone	+	+	majeure
<i>Esters</i>			
Acétate d'éthyle	+	+	importante
2-phényl éthylacétate		+	mineure
<i>Phénols</i>			
Phénol		+	majeure
<i>Composés soufrés</i>			
Disulfure de méthyle	+	+	moyenne
2,3,4-trithiapentane		+	traces
Thiobenzoate de méthyle	?		traces
<i>Hydrocarbures</i>			
Benzène		+	traces
Naphtalène	+	+	traces
<i>Divers</i>			
Indole		+	majeure
Méthylindole		+	mineure
Dichlorobenzène		+	traces
Triméthylpyridine	+	+	traces
Tétrachloroéthane	+	+	mineure

TABLEAU 2

LIVAROT : produits identifiés par spectrométrie de masse

	OV225	SE30	Quantités
<i>Alcools</i>			
<i>Alcools primaires</i>			
Ethanol	+		moyenne
Propanol	+	+	traces
2-méthyl-1-propanol		+	mineure
3-méthyl-1-butanol	+	+	majeure
Hexanol		+	traces
2-phényl éthanol	+	+	majeure
<i>Alcools secondaires</i>			
2-butanol	+		mineure
2-nonanol		+	traces
2-phényl éthane-2-ol	+	+	mineure
<i>Cétones</i>			
2-butanone		+	traces
2-heptanone		+	mineure
2-nonanone		+	mineure
2-pentadecanone	?		moyenne
Acétophénone	+	+	moyenne
<i>Esters</i>			
Acétate d'éthyle	+	+	importante
Hexanoate d'éthyle		+	mineure
Octanoate d'éthyle	+	+	mineure
Décanoate d'éthyle	+	+	traces
Myristate d'éthyle	+		mineure
Acétate d'amyle		+	traces
β -phényl éthyl acétate	+	+	moyenne
β -phényl éthylpropanoate		+	traces
<i>Phénols</i>			
Phénol	+	+	mineure
Crésol	+	+	traces
<i>Produits soufrés</i>			
Disulfure de méthyle	+		importante
2,3,4-trithiapentane		+	mineure
Méthane thiooctanoate	+	+	mineure
<i>Hydrocarbures</i>			
2-méthylpentane		+	traces
Benzène	+	+	traces
Toluène		+	traces
Naphtalène	+	+	traces
Butylbenzène	+		mineure
<i>Divers</i>			
Indole		+	majeure
2-méthyl-1,3-dioxolane	+	+	traces
Chloroforme	+	+	traces
Ethylphtalate		+	majeure
Diméthylphtalate		+	moyenne

TABLEAU 3

PONT-L'EVÊQUE : produits identifiés par spectrométrie de masse

	OV225	SE30	Quantités
<i>Alcools</i>			
<i>Alcools primaires</i>			
Ethanol	+		moyenne
Propanol	+	+	importante
Butanol	+	+	mineure
2-méthyl-1-propanol	tr.	?	traces
3-méthyl-1-butanol	+	+	importante
Hexanol	+	+	traces
2-phényl éthanol	+	+	importante
<i>Alcools secondaires</i>			
2-propanol	+		mineure
2-butanol	+	+	majeure
2-pentanol	+	+	mineure
2-heptanol	+	+	mineure
2-nonanol	tr.	+	traces
2-phényl éthane-2-ol	+	+	traces
<i>Cétones</i>			
2-butanone	+	+	mineure
2-heptanone	+	+	mineure
2-nonanone	+	+	mineure
Acétophénone	+	+	moyenne
<i>Esters</i>			
Acétate d'éthyle	+	+	moyenne
Propanoate d'éthyle	+	+	mineure
Hexanoate d'éthyle	+	+	traces
Octanoate d'éthyle	tr.		traces
β-phényl éthyl acétate	+		traces
<i>Phénols</i>			
Phénol	+	+	majeure
Crésol	tr.		traces
<i>Composés soufrés</i>			
Disulfure de méthyle	+	+	moyenne
Méthanethiolacétate	+	+	traces
Méthanethiolpropanoate	+	+	traces
2,3,4-trithiapentane		+	traces
<i>Hydrocarbures</i>			
Benzène		+	
Toluène		+	
Xylène	+	+	traces
<i>Divers</i>			
Indole	+	+	majeure
Diméthylphtalate		+	moyenne
Phtalate d'éthyle	+	+	moyenne

TABLEAU 4

LANGRES : produits identifiés par spectrométrie de masse

	OV225	SE30	Quantités
<i>Alcools</i>			
<i>Alcools primaires</i>			
Ethanol	+		majeure
Propanol	+		majeure
2-méthyl-1-propanol	+	+	mineure
3-méthyl-1-butanol	+	+	majeure
2-phényl éthanol	+	+	majeure
<i>Alcools secondaires</i>			
2-propanol	+		
2-butanol	+	+	mineure
2-heptanol		+	moyenne
2-nonanol		?	traces
2-phényl éthane-2-ol		+	mineure
<i>Cétones</i>			
2-heptanone		+	traces
2-nonanone		+	traces
Acétophénone	+	+	moyenne
<i>Esters</i>			
Acétate d'éthyle		+	mineure
Propanoate d'éthyle		+	mineure
Butanoate d'éthyle		+	mineure
Hexanoate d'éthyle		+	moyenne
Octanoate d'éthyle		+	mineure
Decanoate d'éthyle		+	traces
Propanoate d'isoamyle		+	traces
Isobutyrate de méthyle propyle		+	traces
β -phényl éthyl acétate	+	+	moyenne
β -phényl éthyl propionate		+	mineure
<i>Phénols</i>			
Crésol		+	mineure
<i>Composés soufrés</i>			
Disulfure de méthyle	+	+	importante
Méthane thiol acétate	+	+	moyenne
Méthane thiol propanoate		?	traces
2,3,4-trithiapentane		+	traces
<i>Hydrocarbures</i>			
Benzène		+	traces
Toluène		+	mineure
Xylène	+	+	mineure
Styrène	+	+	importante
Méthylstyrène		+	traces
Indène		+	traces
Méthyl éthyl benzène		+	traces
Naphtalène	?	+	traces
<i>Divers</i>			
Indole		+	moyenne
Chloroforme	+	+	traces
Phtalate d'éthyle		+	mineure
Dichlorobenzène		+	traces

TABLEAU 5

EPOISSES : produits identifiés par spectrométrie de masse

	FFAP	SE30	Quantités
<i>Alcools</i>			
<i>Alcools primaires</i>			
Ethanol	+		
Propanol		+	
2-méthyl-1-propanol	+	+	importante
Butanol	+	+	traces
3-méthyl-1-butanol	+	+	majeure
3-méthyl-1-pentanol	+	+	
2-phényl éthanol	+	+	majeure
<i>Cétones</i>			
2-nonanone	+?		traces
2-undecanone		+	
<i>Esters</i>			
Acétate d'éthyle	+	+	importante
Propanoate d'éthyle	+	+	
Butanoate d'éthyle	+	+	moyenne
Isovalérate d'éthyle	+	+	mineure
Hexanoate d'éthyle	+	+	mineure
Octanoate d'éthyle	+	+	moyenne
Decanoate d'éthyle	+	+	importante
Dodecanoate d'éthyle	+	+	importante
Acétate d'amyle		+	
β-phényl éthyl acétate	+	+	majeure
β-phényl éthyl propionate	+	+	moyenne
<i>Composés soufrés</i>			
Disulfure de méthyle		+	
Acétate de méthane thiol		+	
<i>Hydrocarbures</i>			
3-méthylpentane		+	
Nonane		+	
Decane	+	+	
Benzène	+		mineure
Toluène	+	+	mineure
Xylène	+	+	traces
Triméthyl benzène		+	
Méthyl éthyl benzène		+	
Diéthyl benzène		+	
Naphtalène		+	

TABLEAU 6

Composés	Maroilles	Livarot	Pont-l'Évêque	Langres	Epoisses
Ethanol		++	++	++++	(+)
Propanol	tr.	tr.	+++	++++	(+)
<u>2-méthyl-1-propanol</u>	+	+	tr.	+	+++
Butanol			+		tr.
<u>3-méthyl-1-butanol</u>	++	++++	+++	++++	++++
<u>3-méthyl-1-pentanol</u>					(+)
Hexanol		tr.	tr.		
<u>2-phényl éthanol</u>	++++	++++	++++	++++	++++
<u>Phényl méthanol</u>	+				
2-propanol			+	(+)	
2-butanol	+	+	++++	+	
2-pentanol	+		+		
2-heptanol	+		+	+	
2-nonanol		tr.	tr.	tr.	
2-phényl éthane-2-ol	+	+	tr.	+	
2-butanone	+	tr.	+		
2-pentanone	+				
2-heptanone	++	+	+	tr.	
2-nonanone	+++	+	+	tr.	tr.
2-undecanone	++				+
2-tridecanone	+++				
Acétophénone	++++	++	++	++	
<u>Disulfure de méthyle</u>	++	+++	++	+++	(+)
Acétate de méthane thiol			tr.	++	(+)
2,3,4-trithiapentane	tr.	+	tr.	tr.	
Thiobenzoate de méthyle	tr.				
Acétate d'éthyle	+++	+++	++	+	+++
Propanoate d'éthyle			+	+	(+)
Butanoate d'éthyle				+	++
Isovalérate d'éthyle					+
Hexanoate d'éthyle		+	tr.	++	+
Octanoate d'éthyle		+	tr.	+	++
Decanoate d'éthyle		tr.		tr.	+++
Dodecanoate d'éthyle					+++
Acétate d'amyle		tr.			(+)
<u>β-phényl éthyl acétate</u>	+	++	tr.	+++	++++
<u>β-phényl éthyl propionate</u>		tr.		+	++
Phtalate d'éthyle		++++	+++	+	
Diméthylphtalate		+++	+++		
Chloroforme		tr.		tr.	tr.
Trichoroéthylène					(+)
Tetrachloroéthylène					(+)
Tetrachloroéthane	+				
Dichlorobenzène	tr.			tr.	

TABLEAU 6 (suite)

Composés	Maroilles	Livarot	Pont-l'Évêque	Langres	Epoisses
<u>Phénol</u>	++++	+	++++		
Crésol		tr.	tr.	+	
2-méthylpentane		tr.			
3-méthylpentane					(+)
Nonane					(+)
Decane					(+)
Benzène	tr.	tr.	(+)	tr.	+
Toluène		tr.	(+)	+	+
Xylène			tr.	+	tr.
Naphtalène	tr.	tr.		tr.	(+)
Triméthylbenzène					(+)
Méthyléthylbenzène				tr.	(+)
Diéthylbenzène					(+)
<u>Indole</u>	++++	++++	++++	+	(+)
Méthylindole	+				
Triméthylpyridine	tr.				

TABLEAU 7

Récapitulatif des composés isolés des différents fromages

++++ = composant majeur.

+++ = composant important (quantitativement).

++ = composant moyen.

+ = composant mineur.

tr. = composant présent à l'état de traces.

(+) = composant présent mais dont il est impossible de fixer l'importance quantitative (pic non résolu).

III. — RESULTATS

Les composés présentés dans les tableaux 1 à 5 sont ceux identifiés avec certitude sur plusieurs échantillons différents. Un certain nombre d'autres composés qui n'ont été rencontrés qu'une seule fois

ou qui donnent un spectre que nous n'avons pas réussi à interpréter ont été systématiquement omis.

Parmi tous les composés identifiés, nombreux sont ceux qui ne sont présents qu'à l'état de traces. Dans la plupart des cas quelques composés représentent à eux seuls la plus grande partie de l'extrait. Nous indiquons, sur chacun des tableaux consacrés à un type de fromage particulier, l'importance quantitative de chacun des composés identifiés.

Le tableau 6 récapitule les résultats et permet une comparaison entre fromages.

IV. — DISCUSSION

Une certaine impression d'homogénéité se dégage de l'examen des différents tableaux et en particulier du tableau 6. Seul l'Epoisses se singularise par l'abondance et la diversité des esters éthyliques présents. Cette différence mise à part tous les fromages décrits sont plutôt caractérisés par une série d'alcools primaires parmi lesquels le 3-méthyl-1-butanol plus connu sous le nom d'alcool isoamylique joue un rôle majeur.

On notera également l'importance des produits appartenant à la série aromatique : le 2-phényl éthanol (composé couramment utilisé en parfumerie pour son odeur de rose) et l'un de ses esters le β -phényl acétate ; l'acétophénone ou phényl méthyl cétone (qui dérive du 2-phényl éthane-2-ol) composé bien connu des parfumeurs pour sa note de fleur d'oranger est présente dans tous les cas. La mise en évidence de ces produits est à rapprocher de celle des acides phénylacétique et phénylpropionique dans le Livarot (Kuzdzal-Savoie et *al.* [10]). Toutes ces substances comportant un radical phényl dérivent très vraisemblablement d'un même précurseur : la phénylalanine.

Les autres composés majeurs sont le phénol et l'indole. Ce dernier qui possède une odeur plaisante en solution très diluée, apporte, lorsque la dilution atteint 10^{-3} ppm, une note d'amertume très caractéristique. La présence d'indole est facilement explicable par la dégradation du tryptophane dont sont capables divers groupes bactériens.

Enfin, parmi les composés importants, on trouve le 2-méthyl-1-propanol, le disulfure de méthyle, le benzène et pour le Pont-l'Evêque le 2-butanol.

Contrairement aux fromages à pâte molle à croûte fleurie, les fromages à croûte lavée sont assez pauvres en méthylcétones et corrélativement en alcools secondaires.

Hormis les composés majeurs ou importants qui viennent d'être cités de nombreux autres composés sont présents en faibles quantités ou à l'état de traces. Certains comme le phtalate de méthyle sont sans

doute des contaminants. Une revue récente [5] a montré que ce type de pollution n'était pas à exclure, le phtalate de méthyle étant un plastifiant d'un usage très répandu qui pourrait donc provenir de matériel de laiterie en plastique. D'autres, comme les hydrocarbures aromatiques qui pourraient a priori passer pour des contaminants, sont en réalité à considérer comme des substances normalement présentes. D'une part ils ont été signalés par différents auteurs dans d'autres types de fromages [4, 11] et dans différents produits alimentaires [13] et, d'autre part, il a été démontré qu'ils peuvent provenir de la dégradation du carotène [7].

Les composés soufrés passent pour jouer un rôle important dans l'arôme des fromages à croûte lavée. Les méthodes utilisées ici ne nous ont pas permis de mettre en évidence le méthanthiol très volatil signalé par d'autres auteurs [6] comme le seul thiol présent dans le fromage « Trappiste » mais nous avons trouvé l'acétate de méthanthiol dans le Pont-l'Évêque et l'Epoisses. De tels thioesters n'avaient pas, à notre connaissance, été signalés jusqu'alors dans les produits laitiers mais avaient toutefois été identifiés dans les bières houblonnées [2].

Le disulfure de méthyle a été trouvé dans tous les types de fromages examinés en quantités importantes mais par contre le sulfure de méthyle signalé dans plusieurs produits laitiers et lui-même considéré comme produit de dégradation du méthional, n'a pas pu être mis en évidence.

On remarquera pour conclure que les produits volatils isolés de ces types de fromages semblent provenir pour l'essentiel du catabolisme des acides aminés plutôt que de la dégradation des lipides. Il semble qu'il faille y voir l'influence caractéristique de la flore de surface.

Résumé

On a comparé les produits neutres volatils, obtenus par distillation sous vide poussé, et identifiés par couplage chromatographique en phase gazeuse et spectrométrie de masse, à partir de cinq types de fromages à croûte lavée (Maroilles, Livarot, Pont-l'Évêque, Langres, Epoisses). Dans tous les cas, les produits les plus importants semblent être les 2-méthyl-1-propanol, 3-méthyl-1-butanol, 2-phényl éthanol, disulfure de méthyle et le phénol. De nombreuses autres substances sont mises en évidence.

Summary

The neutral volatile compounds obtained through high vacuum distillation from five different type of surface ripened cheese have been identified by GC-MS. In all the samples 2-methyl-1-propanol,

3-methyl-1-butanol, 2 phenyl ethanol, dimethyldisulfide and phenol are the major constituents. Numerous other compounds have been listed.

Reçu pour publication le 5 novembre 1973.

Bibliographie

- [1] ADDA (J.) et DUMONT (J. P.) — Les substances responsables de l'arôme des fromages à pâte molle. *Le Lait* (ce numéro, p. 1).
- [2] BUTTERY (R. G.) (1967). — Hop flavor in : The chemistry and physiology of flavors, *AVI Publishing Co.*, Westport Conn, 406.
- [3] CORNU (A.) et MASSOT (R.) (1966). — Index de spectres de masse. *Presses Universitaires de France*.
- [4] DAY (E. A.) and ANDERSON (D. F.) (1965). — Gas chromatographic and mass spectral identification of natural components of the arôme fraction of blue cheese. *J. Agr. Food Chem.*, 13, 1, 2-4.
- [5] FISHBEIN (L.) and ALBRO (P. W.) (1972). — Chromatographic and biological aspects of the phtalate esters. *J. Chromat.*, 70, 365-412.
- [6] GRILL (H.), PATTON (S.) and CONE (J. F.) (1966). — Aroma significance of sulfur compounds in surface ripened cheese. *J. Dairy Sci.*, 49, 409.
- [7] JOHNSON (A. E.), NURSTEN (A. E.), SELF (R.). — Aromatic hydrocarbons in foodstuffs and related materials. *Chemistry and Industry*, 4 jan. 1969, 10-12.
- [8] KUZDZAL-SAVOIE (S.) et ADDA (J.) (1970). — L'arôme de quelques types de fromages français. *La France et ses parfums*, 69.
- [9] KUZDZAL-SAVOIE (S.), KUZDZAL (W.) (1971). — Dosage des acides gras libres volatils dans quelques types de fromages français. *La Technique Laitière*, 717.
- [10] KUZDZAL-SAVOIE (S.), LOSI (G.), KUZDZAL (W.) et GOTO (K.) (1971). — Mise en évidence des acides benzoïque, phénylacétique et phénylpropionique dans les acides gras libres du Munster et du Livarot. *La Technique Laitière*, 724.
- [11] LANGLER (J. E.) (1966). — Flavor chemistry of Swiss cheese. *Diss. Abs. Sect. B.*, 27, (8), 26225.
- [12] STARK (W.) et ADDA (J.) (1972). — Acides gras volatils du Livarot et du Pont-l'Evêque. *La Technique Laitière*, 726.
- [13] SYDOW (E.) (Von) and ANJOU (K.) (1969). — The aroma of Bilberries. I. Identification of volatile compounds. *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, 2, 78-81.