

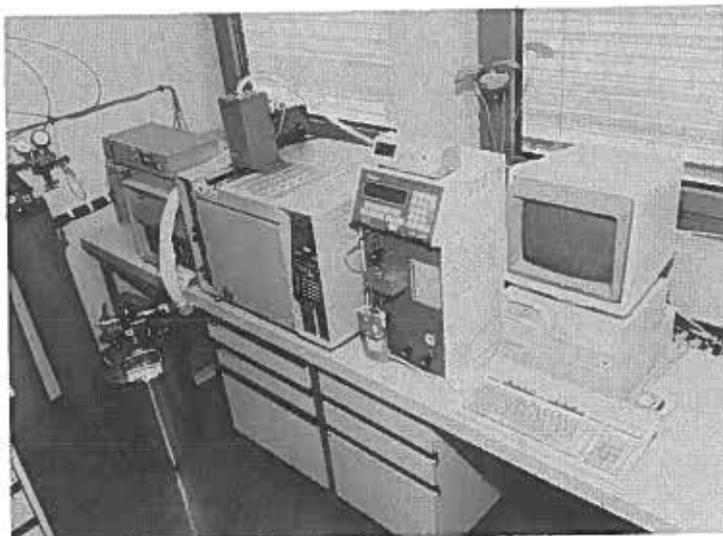


Août 1991/229W
Station de recherches laitières

CH-3097 Liebefeld-Berne

La recherche sur les arômes à la Station de recherches laitières: base, développement et objectifs

J.O. Bosset et P. Lavanchy .



Légende de la page de garde:

Les deux aspects complémentaires de la recherche sur les arômes à la FAM, l'analyse sensorielle (photo de gauche) et l'analyse instrumentale à l'aide d'un chromatographe "en phase gazeuse" avec détection par spectrométrie de masse (GC-MS; photo de droite)

Trav. chim. aliment. hyg. 82, 199-222 (1991)
Présenté le 30 janvier 1991. Accepté le 4 mars 1991

La recherche sur les arômes à la Station fédérale de recherches laitières: bases, développement et objectifs

Flavour Research by the Swiss Federal Dairy Research Institute:
Bases, Development and Objectives

*J. O. Bosset** et *P. Lavanchy*
Station fédérale de recherches laitières (FAM), Liebefeld-Berne

Préambule

L'hédonisme qui caractérise notre civilisation occidentale explique pour une bonne part le rôle toujours plus important que jouent les arômes dans l'alimentation humaine et les travaux de recherche dont ils font l'objet. Différenciant la simple nutrition de la gastronomie, les arômes, pour nos sens olfactif et gustatif, comme les colorants, pour notre sens visuel, peuvent même être considérés comme des substances-clés des produits alimentaires. Sans être des nutriments à proprement parler, ce sont eux qui stimulent l'appétance ou, au contraire, nous mettent en garde contre le manque de fraîcheur de ce que nous mangeons, donc contre un risque éventuel d'intoxication.

Différences entre odeur et goût en analyses sensorielles et instrumentales

Sous l'appellation de flaveur ou d'arôme(s), on comprend généralement les composés responsables tant de l'odeur que du goût des aliments. Nos sens olfactif et gustatif sont physiologiquement si étroitement liés qu'on confond souvent leurs informations dans la pratique. Il est néanmoins aisé de percevoir une odeur avec le (seul) nez, sans recourir aux données fournies par les papilles gustatives. L'inverse peut être évident (distinguer des cristaux de sel et de sucre sur la langue) ou nettement plus difficile. Déguster un fromage très mûr en excluant les récepteurs du nez demande un certain entraînement sensoriel, mais n'est pas exclu.

* Conférence présentée par le lauréat du prix et de la médaille Werder 1991 dans le cadre de l'assemblée générale de la Société suisse d'hygiène alimentaire, le 12 avril 1991 à l'École polytechnique fédérale de Zurich.

Cette distinction entre odeur et goût est essentielle pour comprendre ce qui est effectué dans le cadre de la recherche sur les arômes:

- les substances perçues par le nez sont dites volatiles. Il s'agit surtout de composés gazeux ou de liquides qui s'évaporent facilement. La méthode la plus couramment utilisée pour les analyser, la chromatographie en phase gazeuse (GC), recourt précisément à cette propriété chimico-physique des composants du mélange d'arômes à séparer;
- les substances perçues seulement par la bouche sont dites non volatiles. Il s'agit en général de composés solides à température ambiante. Les méthodes d'analyse généralement utilisées sont la chromatographie liquide/liquide à haute performance (HPLC) et la chromatographie par échange d'ions (IEC). La première est basée sur la polarité des divers constituants du mélange d'arômes à séparer, c.-à-d. sur leur solubilité dans l'eau ou dans les solvants organiques, la seconde sur leur caractère acido-basique.

Il n'existe pas de méthode universelle permettant simultanément l'analyse instrumentale (c.-à-d. n'utilisant que des appareils de mesure) de ces deux classes de substances. Un choix doit donc être fait a priori (GC pour les volatiles, HPLC ou IEC pour les non volatiles) sur la base d'un examen sensoriel effectué par un jury de dégustateurs entraînés. Seul un tel examen couvre en effet ces deux grands domaines de la recherche sur les arômes (odeur et goût).

Délimitation du cadre de la recherche sur les arômes à la FAM

Selon l'Ordonnance fédérale sur les denrées alimentaires, on distingue trois catégories d'arômes: ceux dits naturels, ceux qui sont identiques aux naturels et ceux de synthèse. Les arômes, volatils ou non, agréables ou non, étudiés à la FAM appartiennent exclusivement au groupe des naturels. Seuls entrent en ligne de compte les arômes présents dans le lait ou ceux qui résultent de la fabrication (cultures) ou de l'affinage (morge, cultures de surface) de produits laitiers ou ceux encore générés par un procédé technologique (traitements thermique ou mécanique) ou par le stockage (emballage inclus). En sont exclus tous les arômes ou parfums qui sont volontairement ajoutés (fruits, essences en tous genres telles que café, chocolat, condiments ou autres) pour modifier la flaveur du produit de départ, surtout pour les produits acidifiés frais.

Les arômes étudiés sont généralement des substances de structure relativement simple; qu'il est même parfois possible d'acheter sous forme pure à des fabriques de produits chimiques. Si tel est le cas, il est possible d'injecter ces substances pures dans l'analyseur utilisé (GC, HPLC ou IEC) pour confirmer l'identité du composant analysé (temps de rétention chromatographique et spectre de masse). Pour les composants volatils, il s'agit généralement de substances appartenant à l'une des classes de composés suivantes: acides gras volatils, alcools (primaires ou secondaires), cétones (surtout méthylcétones), cétoalcools, aldéhydes, esters, lactones, éthers, alcanes et alcènes, composés azotés tels que pyrazines ou composés soufrés. Quant aux composants non volatils, on n'en connaît que quelques-uns: acides

aminés libres, (macro)peptides, sels organiques (généralement d'acides) ou inorganiques, corps gras (mono-, di- et surtout triglycérides), protéines et sucres (pour les produits laitiers non fermentés), l'eau étant presque toujours le solvant ou, pour les constituants insolubles, le milieu dispersant. L'origine de la plupart de ces arômes est à rechercher dans les mécanismes de protéolyse, de glycolyse ou de lipolyse du lait (42-48).

Historique

Depuis la réorganisation de la FAM, en juillet 1987, les laboratoires de GC, de HPLC et de IEC traitant des questions d'arômes ont été réunis dans la section de «chimie» qui travaille conjointement avec d'autres sections pour certains projets. Parallèlement, un troisième laboratoire a été mis sur pied dans la section (état-major) de «coordination»: le laboratoire d'analyse sensorielle.

Développement du laboratoire d'analyse des composants volatils

Ce laboratoire, créé en 1976, a connu un développement considérable du point de vue de son équipement. Pour remplacer un ancien GC (type 5711A de Hewlett-Packard) équipé d'une colonne à remplissage et d'un intégrateur assez primitif, un chromatographe moderne à l'époque (type Sigma 1 de Perkin-Elmer) a été mis en service dès 1982. Sa colonne capillaire a très nettement amélioré la résolution chromatographique, permettant de mettre en évidence plus d'une centaine de composés et d'en intégrer la surface de façon plus adéquate. Le détecteur utilisé, un détecteur à ionisation de flamme (FID), ne permettait pourtant pas encore l'identification des composants de l'arôme extrait. A l'époque, un tel travail ne pouvait être effectué qu'à l'extérieur de la FAM, grâce au concours bienveillant de laboratoires équipés d'un GC avec un détecteur à spectrométrie de masse (GC-MS). Dès 1986, un nouveau GC, à la pointe du progrès (type 5890 de Hewlett-Packard), a été acquis, équipé cette fois-ci d'un tel détecteur (type 5970 de Hewlett-Packard) en plus du classique FID. Ce nouvel analyseur permettait de plus l'acquisition électronique de toutes les données brutes de l'analyse, qui pouvaient ainsi être retraitées ultérieurement (post run) par un second ordinateur (H.-P. Workstation 300) de façon entièrement indépendante: visualisation sur écran graphique, réintégration, calculs divers, recherche dans les bibliothèques etc. Ce nouvel équipement permettait ainsi à la FAM de travailler de façon indépendante sur la base de plus de 130 000 spectres de référence contenus dans les bibliothèques de Wiley (50) et du TNO (51) et mémorisés pour le travail d'identification des substances intéressantes. L'introduction de colonnes chromatographiques liées, en silice fondue (type DB bound), assurait en outre une plus grande longévité et aisance de manutention de celles-ci.

Parallèlement à ce développement de l'équipement du laboratoire en appareils et en instruments de mesure, les méthodes d'analyse proprement dites ainsi que

leurs performances ont également évolué. Une analyse d'arômes comporte en général les 3 phases consécutives suivantes: une extraction des arômes, une concentration et une injection de l'extrait dans l'analyseur (GC-MS ou GC-FID). Ce dernier assure alors la séparation des composés, leur identification et leur quantification.

Cinq méthodes d'analyse ont été successivement mises au point et utilisées à la FAM pour l'analyse des arômes volatils:

- Une méthode d'extraction et de distillation à température légèrement sub ambiante (0-10 °C) et sous haut vide, dite «à la tour» (8) (fig. 1). Ses principaux avantages sont d'éviter toute oxydation et toute dégradation thermique des composés sensibles. Ses inconvénients majeurs sont la taille importante de l'échantillon et la durée considérable de l'étape d'extraction.

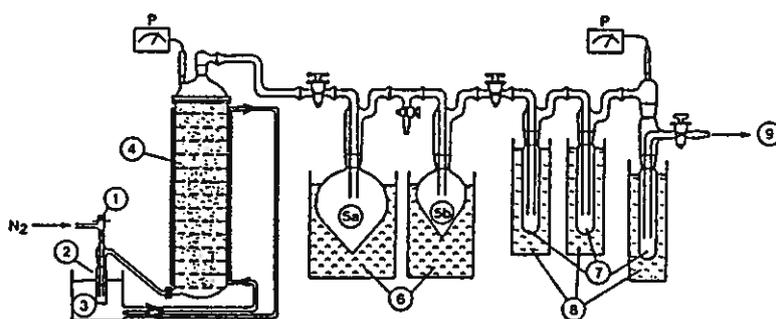


Fig. 1. Appareillage d'extraction et de distillation des arômes à température légèrement subambiante (0-10 °C) et sous haut vide, dit «à la tour», avec récupération par pièges cryogéniques

Légende: Développement FAM (8)

Pos. 1-3: Réglage débit et degré d'humidité du gaz extracteur N₂

Pos. 4: Tour d'extraction (remplie de fromage râpé)

Pos. 5: Pièges cryogéniques (à -77 °C)

Pos. 6: Mélange réfrigérant (alcool + neige carbonique)

Pos. 7: Pièges cryogéniques (à -196 °C)

Pos. 8: Mélange réfrigérant (azote liquide)

Pos. 9: Dispositif de pompage à haut vide (pompe à diffusion)

- Une méthode d'entraînement à la vapeur d'eau (60 °C) recourant à un «rotavapor^R» de Büchi. Cette méthode (28) (fig. 2) est beaucoup plus rapide et nécessite moins d'échantillon, mais risque d'engendrer des produits de dégradation indésirables. Ces deux premières méthodes exigent en outre une réextraction des arômes, obtenus en milieu aqueux, en recourant à un solvant organique tel que l'éther. Cette exigence a certaines conséquences négatives pour l'analyse telles que la perte d'arômes lors de l'étape de la concentration, le risque d'introduction d'impuretés et d'artefacts ainsi qu'un travail fastidieux et relativement plus dangereux.

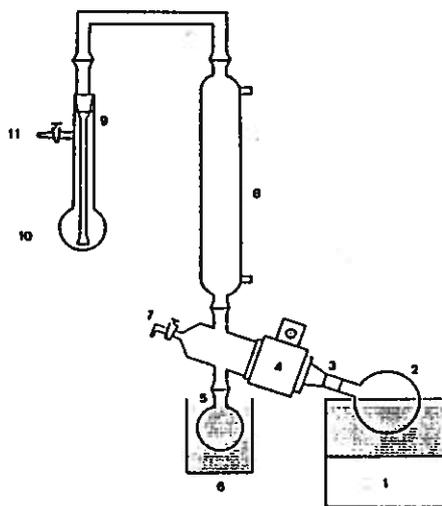


Fig. 2. Appareillage d'extraction des arômes par entraînement à la vapeur d'eau (60 °C) et sous pression réduite (20 mbar) à l'aide d'un rotavapor^R avec récupération par condenseur

Légende: Développement FAM (28)

Pos. 1: Bain-marie (60 °C)

Pos. 2: Ballon d'extraction (contenant l'échantillon dispersé)

Pos. 3-7: Rotavapor^R

Pos. 5-6: Ballon de récupération du condensat (avec glace)

Pos. 8: Condenseur avec circulation d'un liquide réfrigérant

Pos. 9-10: Piège cryogénique pour composés gazeux (N₂ liquide)

Pos. 11: Dispositif de pompage (trompe à eau ou équivalent)

- Une méthode par entraînement des arômes à l'aide d'un gaz inerte et par piégeage de ces derniers sur un support adsorbant inerte (poudre de graphite ou charbon actif) (25). La récupération et l'injection de ces arômes dans le GC est effectuée par une désorption thermique très énergique à l'aide d'un four à micro-ondes (type MWS-1^R de Reaktorik) (fig. 3).
- Une méthode basée sur le même principe, mais offrant en plus les avantages suivants: étapes entièrement automatisées; piégeage sur de nombreux adsorbants possibles à choix (par ex. tenax/carbopack^R); désorption beaucoup plus ménagante, suivie d'une étape de cryoconcentration. L'équipement utilisé est un «Purge and Trap^R» (Tekmar 2000^R). Au nombre des grands avantages de ces deux dernières méthodes, il faut citer en outre la taille beaucoup plus restreinte de l'échantillon requis, un investissement en temps et en travail moindre, des pertes en arôme plus faibles et un risque de contamination diminué (fig. 4).
- Une méthode d'extraction des arômes à l'aide d'un gaz surcritique (CO₂), couplée directement (sans détente intermédiaire) à une chromatographie surcritique sur colonne capillaire. Le développement de cette technologie analytique de pointe a été réalisé en collaboration avec l'EPF-Lausanne dans le cadre de deux thèses de doctorat (16-24, 35) (fig. 5).

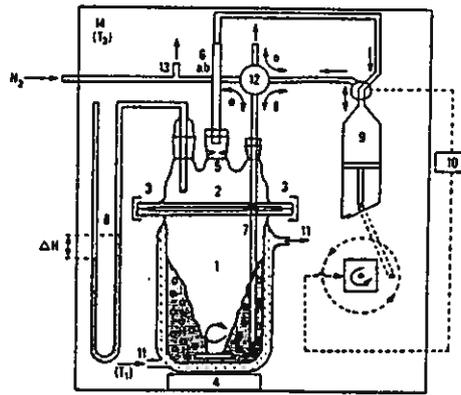


Fig. 3. Appareillage d'extraction des arômes par entraînement avec un gaz inerte (N_2 à $40\text{ }^\circ\text{C}$ et sous pression atmosphérique) avec récupération par un piège adsorbant (poudre de graphite ou charbon actif)

Légende: Développement FAM (25). L'injection est effectuée ensuite par désorption thermique à l'aide d'un four à micro-ondes (MWS-1^R de J. Rektorik, Genève)

- Pos. 1-5: Barboteur pour l'entraînement des arômes avec N_2
- Pos. 6: Piège solide pour l'adsorption des arômes
- Pos. 7: Tube plongeant du dispositif de barbotage
- Pos. 8: Manomètre à eau
- Pos. 9: Burette fonctionnant comme pompe de circulation (gaz)
- Pos. 10: Intégrateur (mesure du volume de gaz pompé par pos. 9)
- Pos. 11, 14: Enceintes thermostatiques (évitant toute condensation)
- Pos. 13: Réglage de la pression d'extraction (= atmosphérique)

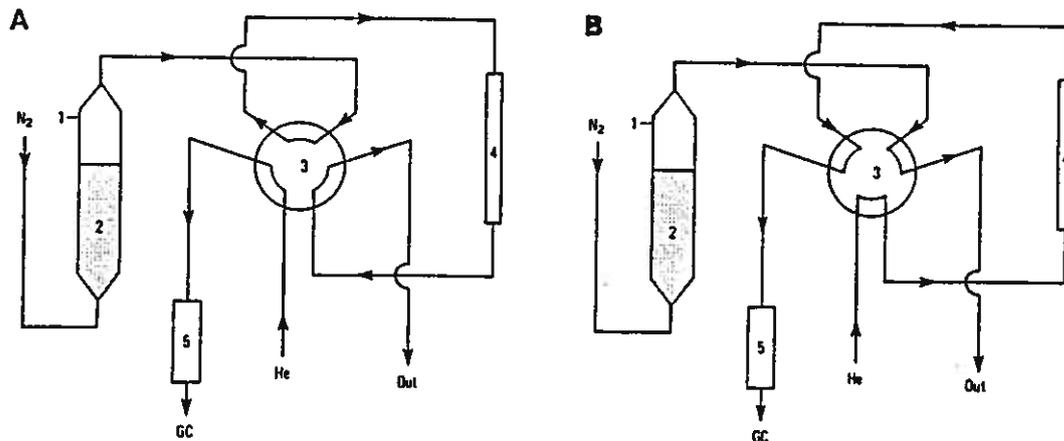


Fig. 4. Appareillage intégré permettant successivement: 1) l'extraction des arômes par entraînement avec un gaz inerte (N_2 à $40\text{ }^\circ\text{C}$ et sous pression atmosphérique) avec récupération par piège adsorbant (à choix), 2) la concentration et 3) l'injection des arômes dans un GC

- Légende: Système dit «Purge & Trap», Tekmar 2000; USA
- A) «Purge modus»; B) «Desorption & Injection modus»
 - Pos. 1: Compartiment d'extraction des arômes («sparger»)
 - Pos. 2: Echantillon finement dispersé dans de l'eau
 - Pos. 3: Vanne multiple («6 port valve»)
 - Pos. 4: Cartouche d'adsorption («trap»)
 - Pos. 5: «Cryofocussing» (avec N_2 liquide)

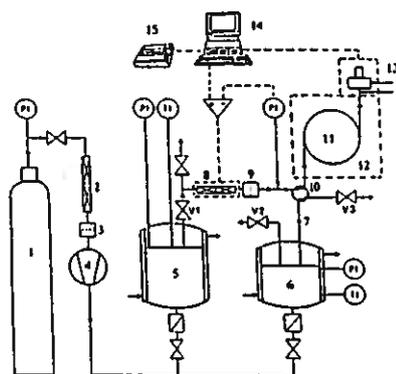


Fig. 5. Appareillage intégré permettant l'extraction surcritique (SFE) des arômes (CO₂ à 40°C et 100 bar), leur injection directe (sans détente intermédiaire) et leur séparation chromatographique surcritique (SFC avec CO₂) sur colonne capillaire
 Légende: Développement d'un prototype EPFL – FAM (20–22, 24, 35)
 Pos. 1–5: Dispositif de préparation du gaz surcritique (CO₂)
 Pos. 6: Autoclave d'extraction surcritique (SFE)
 Pos. 7: Couplage capillaire (extracteur – chromatographe SFC)
 Pos. 8: Cylindre de programmation de la pression (SFC)
 Pos. 10: Injecteur (SFC)
 Pos. 11: Colonne de séparation (SFC)
 Pos. 12: Four de programmation de la température (SFC)
 Pos. 13: Détecteur (SFC)
 Pos. 15: Unité de contrôle (pilote) et de calcul (SFC)

Les principaux avantages et inconvénients des 4 premières méthodes d'analyse susmentionnées sont résumés dans le tableau 1. Une récente publication (29) compare ces méthodes de façon plus approfondie (fig. 6).

Développement du laboratoire d'analyse des composants non volatils

Il est peut-être bon de rappeler ici quelques différences fondamentales relativement importantes existant entre les possibilités des laboratoires de GC et celles des laboratoires de HPLC. Si les substances volatiles peuvent souvent être analysées dans leur ensemble grâce à une seule et même méthode (choisie parmi l'une des 5 susmentionnées), il en va différemment des composés non volatils qui ne présentent en général aucun autre caractère analytique commun. Les composés azotés tels que protéines, peptides (1, 39), acides aminés (1–7, 9, 10, 36, 37) et amines biogènes (13, 30), les glucides, les lipides, les sels organiques ou minéraux – pour ne citer que quelques composants importants pour le goût du lait et des produits laitiers – requièrent chacun une méthode d'analyse différente. Une seconde différence importante entre le laboratoire de GC et le laboratoire de HPLC de la FAM est que ce dernier ne dispose pas (encore) de (HP)LC-MS qui permette une identification des composés d'un mélange d'arômes non volatils. Un tel équipement, très sophistiqué, est beaucoup plus onéreux que le GC-MS susmentionné. Ce point sera repris

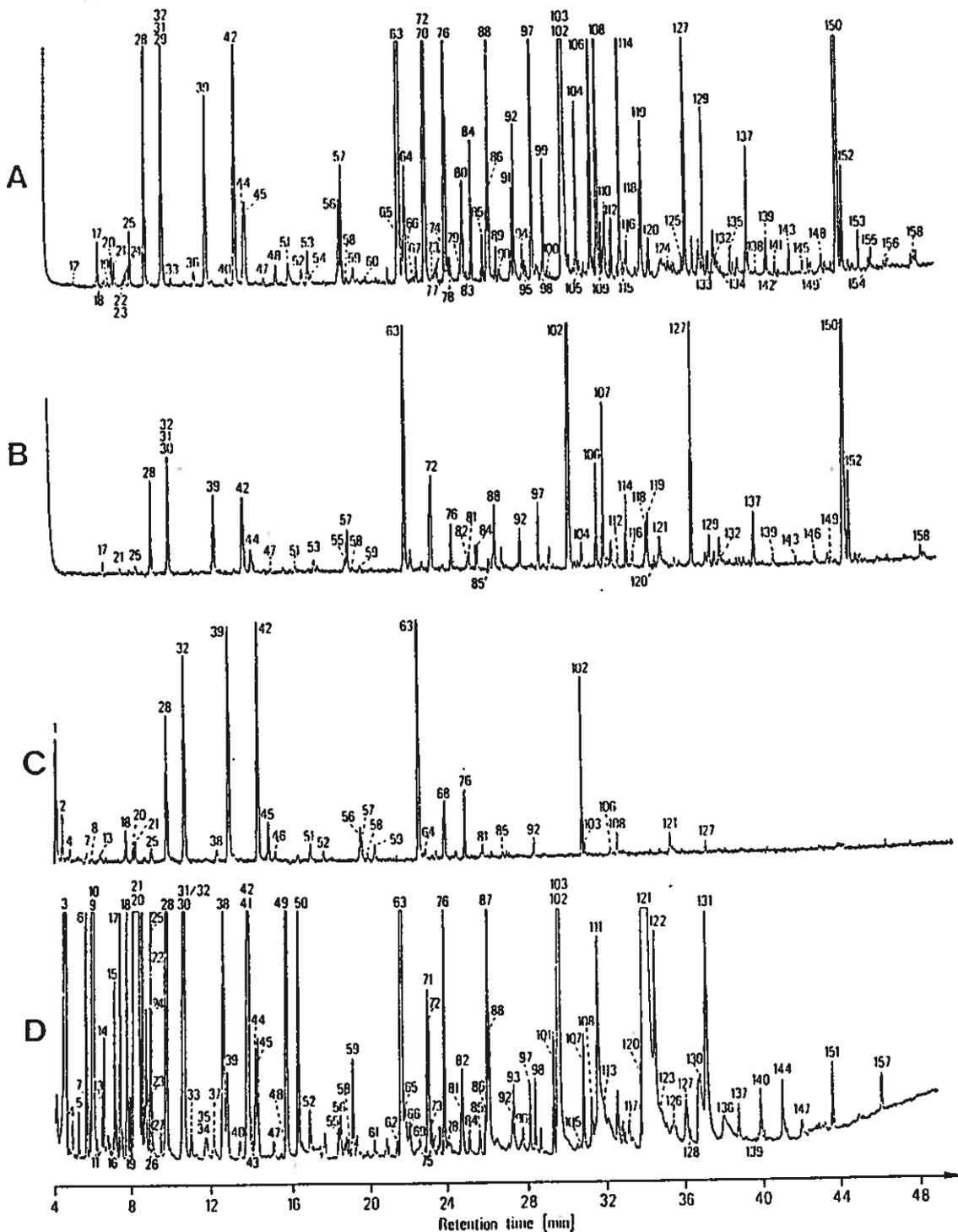


Fig. 6. Comparaison de 4 méthodes d'extraction, de concentration et d'injection des arômes volatils (analysés dans les mêmes conditions de GC-MS) du même fromage (type Emmental)
 Légende:
 A: méthode «à la tour» (extraction-distillation sous haut vide)
 B: méthode «au rotavapor» (entraînement à la vapeur d'eau)
 C: méthode de type «Purge & Trap» avec un MWS-1 (Rektorik)
 D: méthode de type «Purge & Trap» avec un Tekmar 2000
 (cf. les détails dans le texte)

Tableau 1. Comparaison de 4 méthodes d'extraction, de concentration et d'injection des arômes volatils en vue de leur analyse par GC

	Distillation sous haut vide (extraction «à la tour»)	Extraction à la vapeur d'eau («au rotavapor»)	Analyse «headspace» dynamique (extraction & concentration sur cartouche adsorbante, désorption thermique) Système Reaktorik MWS 1 Système Tekmar LSC 2000
Quantité	env. 2,5 kg	env. 250 g	env. 5 – 25 g
Durée analyse	env. 3 jours	env. 3 heures	env. 1,5 heure
Température	env. 0 – 10 °C	env. 60 °C	env. 40 °C
Pression	env. 0,001 mbar	env. 20 mbar	pression atmosphérique
Application en	recherche	recherche / routine	recherche / routine
Avantages	<ul style="list-style-type: none"> - Extraction ménagante - Extraits riches en arôme - Injections GC multiples - Distillat utilisable pour d'autres analyses 	<ul style="list-style-type: none"> - Adéquat pour composés peu et moyennement volatils - Injections GC multiples - Distillat utilisable pour d'autres analyses 	<ul style="list-style-type: none"> - Faible taille de l'échantillon - Pas de solvant organique - Extraction et concentration simultanées - Standard interne possible
Inconvénients	<ul style="list-style-type: none"> - Grosse taille de l'échantillon - Exige beaucoup de place, de temps et de travail - Plusieurs étapes de travail - Vide poussé nécessaire - Emploi de solvant organique - Pertes d'arôme importantes - Artefacts et contaminants - Utilisable seulement pour échantillons solides 	<ul style="list-style-type: none"> - Plusieurs étapes de travail - Produits de dégradation thermique - Emploi de solvant organique - Pertes d'arôme importantes - Artefacts et contaminants (détergents, solvants etc.) 	<ul style="list-style-type: none"> - Cf. ceux de Reaktorik plus: - Adéquat pour composés très et moyennement volatils - Nombreux adsorbants pour applications spéciales - Limite de détection basse - Analyseur intégré

ultérieurement lors de la discussion des possibilités et des limites des prestations offertes par la FAM dans ce domaine.

Il est difficile de situer historiquement la date de la création du laboratoire d'analyse des composés non volatils de la flaveur. Bien que chargé dès le début du dosage de composants tels qu'acides aminés, protéoses-peptones puis des amines biogènes, ce laboratoire n'était pas encore connu sous cette nouvelle dénomination et avec une telle orientation.

A l'instar du laboratoire d'analyse des composés volatils, ce laboratoire a également vu évoluer sa dotation en appareillage et en techniques analytiques. Equipé de l'un des deux premiers analyseurs d'acides aminés de Suisse, un Beckmann-Spinco, il a permis des dosages par chromatographie ionique (IEC) pendant plus de 30 ans, mais à la cadence d'un chromatogramme toutes les 6 heures! Au fil des ans, d'habiles bricoleurs ont constamment modernisé cet analyseur qui a achevé sa carrière en 1989 avec le dosage des amines biogènes par IEC. Dès 1976, il a été remplacé par un appareil beaucoup plus moderne et performant, un Durrum de la maison Dionex (USA), qui permettait d'effectuer la même analyse en 3,5 heures. En 1984, c'est un équipement de type Biotronic 7000 qui a pris la relève pour la détermination des acides aminés (36) et de certains de leurs produits de dégradation thermique (lysine bloquée, lysino-alanine etc). Tous ces analyseurs recourent à la très célèbre réaction de «dérivation en postcolonne» à la ninhydrine pour détecter et quantifier les composés analysés.

Depuis 1988, la chromatographie liquide/liquide en «reversed phase» ou «RP-HPLC» (Hewlett Packard 1090M et Kontron 420, 430, 460 et 480) remplace progressivement la IEC pour ce type de dosage (30, 36-37). Les équipements modernes utilisés à la FAM permettent en effet d'obtenir des «dérivations en précolonne» entièrement automatisées (36-37), offrant une résolution chromatographique plus complète et plus rapide que la IEC. L'acquisition électronique de toutes les données brutes de l'analyse permet ici aussi leur retraitement ultérieur («post run») par un ordinateur de façon entièrement indépendante.

Il est parfois nécessaire de recourir à d'autres méthodes que la chromatographie liquide/liquide (HPLC ou IEC) pour analyser certains composés non volatils des arômes. Tel est le cas du dosage des acides gras libres «totaux» du lait et de la crème (31-32) responsables du caractère rance de ces produits.

Développement du laboratoire d'analyse sensorielle

Le laboratoire d'analyse sensorielle de la FAM constitue le troisième et dernier pilier de la recherche sur les arômes. Composé d'environ 25 collaborateurs des deux sexes, de formation et d'âge très divers, un jury de dégustateurs a été recruté sur la base de l'aptitude de ses membres à l'analyse sensorielle. Il a été formé et entraîné aux tâches principales suivantes: identifier un goût (sucré, salé, acide et amer), une odeur ou même une substance, à l'état pur ou dans un mélange complexe; évaluer un seuil de perception; reconnaître un échantillon présenté en double dans un

groupe de trois échantillons codés (test en triangle); ordonner par intensité ou par préférence – croissante ou décroissante – une série d'échantillons; caractériser un défaut de flaveur à l'aide d'une terminologie donnée. Ce laboratoire d'analyse sensorielle est également en mesure d'effectuer des analyses de type rhéologique (consistance, dureté, caractère friable etc.) qui jouent un rôle indirect, mais important, pour la flaveur des produits laitiers.

Contrairement à une opinion assez largement répandue mais erronée, l'analyse sensorielle représente une analyse aussi rigoureuse qu'une analyse instrumentale. Elle permet une détermination tant qualitative que quantitative, surtout si le jury de dégustation dispose d'échantillons de référence. Elle présente en outre maints avantages: elle est rapide dans son exécution, ne nécessite aucune infrastructure complexe et coûteuse. Elle est à même d'analyser les composants tant volatils que non volatils, successivement ou simultanément. Elle donne une information au niveau de la réponse physiologique (et non pas à celui du stimulus d'excitation). «Last but not least», elle est souvent beaucoup plus sensible – de plusieurs puissances de 10 quant au seuil de détection – que les analyses instrumentales (GC, IEC ou HPLC) correspondantes. L'analyse sensorielle (52) se distingue de l'examen organoléptique qui est un simple test de préférence effectué par des consommateurs non instruits.

Objectifs et stratégies

Historiquement, le premier objectif de ce projet de recherche était d'acquérir ou de développer l'«outil» nécessaire à toute recherche en matière d'arômes: équipements, méthodes et techniques d'analyse (8, 14, 20–22, 25, 28–32, 36–37, 39) et de se familiariser avec ce domaine qui, à l'époque, était entièrement nouveau pour la FAM. Ce premier objectif a nécessité d'abord une soigneuse étude de la littérature ainsi que des visites et des stages dans d'autres laboratoires plus avancés que ceux de la FAM pour de telles recherches. Au fur et à mesure que ce premier objectif a été atteint, d'autres objectifs ont pu être définis, que l'on peut subdiviser en trois groupes principaux, en fonction de la stratégie analytique appliquée: *à court, à moyen et à long terme*.

Les objectifs *à court terme* sont fixés et définis par les prestations de service usuelles que la section de chimie offre, dans un cadre très général, à la pratique (service de consultation, support scientifique à l'activité des sections de technologie laitière et de technologie fromagère etc.). Il s'agit en général d'élucider des problèmes concrets ponctuels tels que défauts d'odeur et/ou de goût inconnus, issus de cas pratiques. Les questions posées par les praticiens sont très souvent les mêmes: trouver le nom du ou des composants responsables du défaut signalé, puis en découvrir si possible l'origine et la cause afin de pouvoir l'éviter à l'avenir. La stratégie appliquée pour répondre à ces questions est toujours la même:

- 1) effectuer un examen sensoriel rigoureux ou au moins une dégustation afin de confirmer ou d'infirmer la présence du défaut signalé et de déterminer s'il s'agit

de substances volatiles ou non, dans le but de choisir la meilleure méthode d'analyse (GC, HPLC ou IEC);

- 2) prévoir si possible la ou les substances ou, du moins, la classe des composés (amines, acides gras, composés carbonylés, azotés ou soufrés, peptides, dérivés phénoliques etc.) susceptibles d'expliquer un tel défaut;
- 3) procéder à l'analyse instrumentale d'un couple au moins d'échantillons aussi identiques que possible quant au produit considéré, à sa fabrication, à son âge, à son degré de maturation, à son origine, à son emballage etc. Ce couple ne devrait se différencier que par l'absence ou la présence dudit défaut.

L'évaluation des résultats est effectuée en comparant les chromatogrammes des échantillons ayant ou non le défaut de flaveur recherché. Leurs différences sont attribuées à ce dernier. Cette stratégie est simple, rapide et efficace, surtout si les chromatogrammes obtenus sont complexes, mais elle demeure néanmoins assez limitée quant à son pouvoir déductif, puisqu'elle ne peut saisir en principe qu'un seul défaut par couple analysé. Quelques exemples d'applications sont présentés au prochain chapitre.

Une autre stratégie a ainsi dû être développée permettant, à *moyen terme*, d'étudier cette fois-ci un produit laitier dans un contexte comportant plusieurs inconnues. Un tel objectif est donc beaucoup plus général puisqu'il vise à suivre ou à déterminer plusieurs paramètres simultanément. Le nombre des échantillons nécessaires et, par conséquent, celui des données à traiter sont considérablement plus élevés. Pour l'évaluation de tels essais, il faut recourir à des méthodes statistiques dites multivariées (49) telles que régression linéaire multiple, analyse discriminante (méthodes statistiques permettant de rechercher les paramètres prépondérants pris individuellement ou par combinaison et de les pondérer) et analyse de corrélation (destinée à établir des relations entre ces paramètres). Les résultats de toutes les analyses dites instrumentales doivent toujours être rapportés à une analyse sensorielle parallèle qui demeure irremplaçable puisqu'elle reflète une appréciation physiologique, celle du consommateur auquel est finalement destiné le produit laitier considéré. La portée d'une telle stratégie est bien plus grande, mais le temps, le travail et les moyens, notamment informatiques, mis en oeuvre sont aussi beaucoup plus importants. Seuls peuvent entrer en ligne de compte des essais planifiés longtemps à l'avance dans le cadre du programme de travail de la FAM.

A *long terme* enfin, le but et la stratégie des recherches de la FAM en matière d'arômes sont de mieux élucider l'origine microbienne naturelle de ces derniers, afin d'améliorer la qualité des produits laitiers en favorisant la formation des arômes souhaités et, inversement, en évitant si possible ceux qui sont désagréables. La fabrication artisanale traditionnelle des produits laitiers a de tout temps été le fruit d'une «biotechnologie» d'avant la lettre, où l'empirisme a été la seule règle de développement. Une telle recherche vise à en mieux maîtriser certains aspects. Une thèse de doctorat vient précisément de débiter à la FAM visant à coupler les connaissances, les techniques et les méthodes relevant tant de la microbiologie que de la chimie analytique moderne, voire de la biochimie dans une étape ultérieure. De tels travaux ne sont envisageables que sur une échelle de plusieurs années. Dans

les travaux «à long terme», on peut également citer les études d'affinage des fromages et de l'effet protecteur des emballages.

Exemples d'application

Les exemples suivants présentent chacun une application d'une *stratégie à court terme*, dans laquelle on compare les chromatogrammes d'échantillons présentant ou non le défaut de flaveur constaté sensoriellement, soit:

- une odeur de poisson dans une crème à café stérilisée en bouteille;
- une odeur d'œufs pourris dans un fromage de type Jarlsberg;
- une odeur et un goût d'oxydé dans un fromage de type Tilsit préemballé exposé à la lumière (photo-oxydation);
- une odeur et un goût d'oxydé dans des yoghourts nature exposés à la lumière de tubes fluorescents lors de leur stockage (échantillons défectueux). Des échantillons identiques, mais conservés à l'obscurité ont été utilisés comme référence;
- une odeur de composés phénoliques dans un fromage de type Emmental.

Les différences obtenues après l'analyse par GC-MS desdits échantillons avec ou sans le défaut de flaveur signalé indiquent, dans les 4 premiers cas, la présence:

- de triméthylamine, une amine sentant le poisson, résultant d'une réinfection probable de la crème à café entre les étapes de la prétériorisation et de la stérilisation définitive dans les bouteilles de verre. Une réinfection microbienne est en effet à même d'entraîner une dégradation de la lécithine, une substance naturelle de la membrane des globules gras, en éthanolamine, puis en triméthylamine et éthanol (fig. 7: pics no 3 et 4) (33);
- de 5 composés volatils soufrés sur les 6 nouveaux du Jarlsberg étudié, attribués à une dégradation des acides aminés soufrés du fromage par suite probablement d'une infection bactérienne incontrôlée en cours de fabrication. Une analyse microbiologique effectuée après coup n'a pas pu apporter de réponse à cette question, la flore «sauvage» responsable de ce défaut n'ayant pas survécu à l'affinage du fromage (fig. 8: pics nos 1, 2, 4-6) (travail non publié);
- de 7 composés carbonylés (aldéhydes et méthylcétones de C-3 à C-9), 1 composé soufré et 3 alcools primaires nouveaux dans les morceaux de Tilsit préemballés, en raison de leur exposition à la lumière de tubes fluorescents (fig. 9: pics nos 3, 4, 7, 8, 10-16, travail non publié);
- de quelques composés carbonylés (aldéhydes et cétones) formés à nouveau par la photo-oxydation (oxydation catalysée par la lumière) des yoghourts entreposés à la lumière (fig. 10) (15a, b, c; 26a, b).

Le cinquième cas a pu être élucidé sur la seule base d'une analyse sensorielle: le fromage de type Emmental considéré avait séjourné plusieurs mois sur un plateau de bois qui, avant son premier usage, avait été nettoyé et désinfecté - à titre prophylactique - avec un produit contenant du chlore actif. La réaction de ce

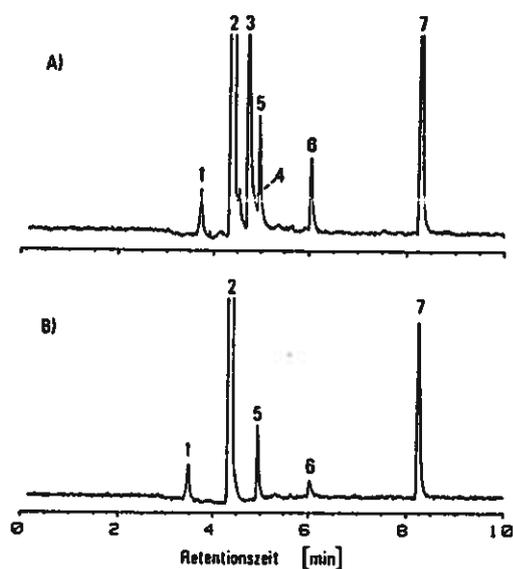


Fig. 7. Chromatogramme GC-MS des arômes volatils de crèmes à café «stérilisées» présentant (en haut) ou non (en bas) une odeur et un goût de poisson dus à la formation de traces de triméthylamine (pic no 3) par suite d'une réinfection bactérienne (en haut)

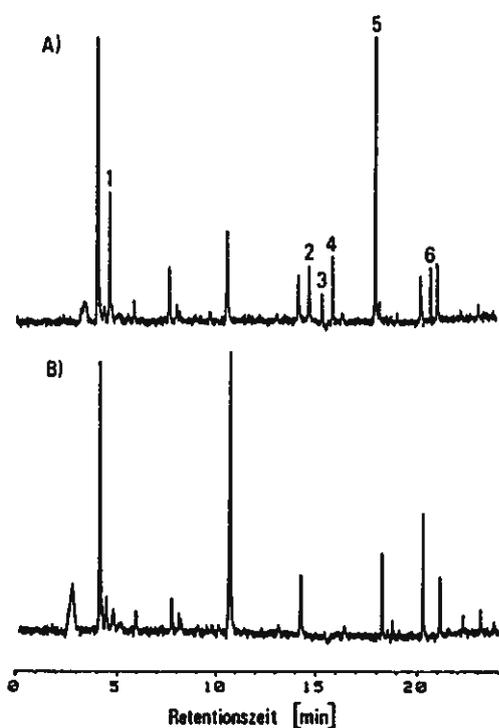


Fig. 8. Chromatogramme GC-MS des arômes volatils d'un fromage de type Jarlsberg présentant (en haut) ou non (en bas) une odeur et un goût d'oeufs pourris dus à la formation de traces de composés soufrés (pic no 1, 2, 4-6) par suite probablement d'une infection bactérienne incontrôlée lors de la fabrication

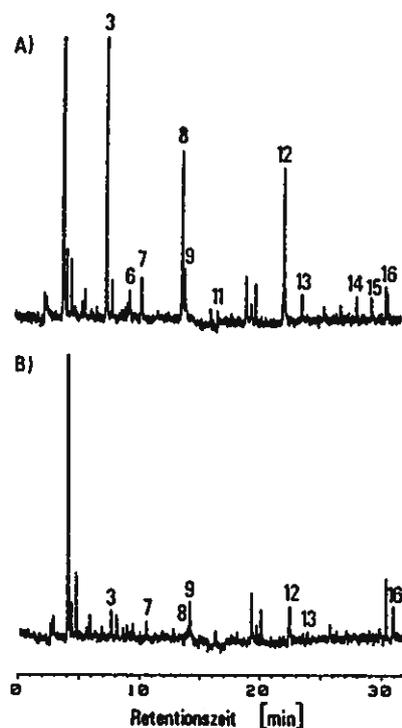


Fig. 9. Chromatogramme GC-MS des arômes volatils de morceaux de Tilsit préemballés présentant (en haut) ou non (en bas) une odeur et un goût d'«oxydé» dus à la formation de composés carbonylés sous l'effet d'une exposition à la lumière de tubes fluorescents

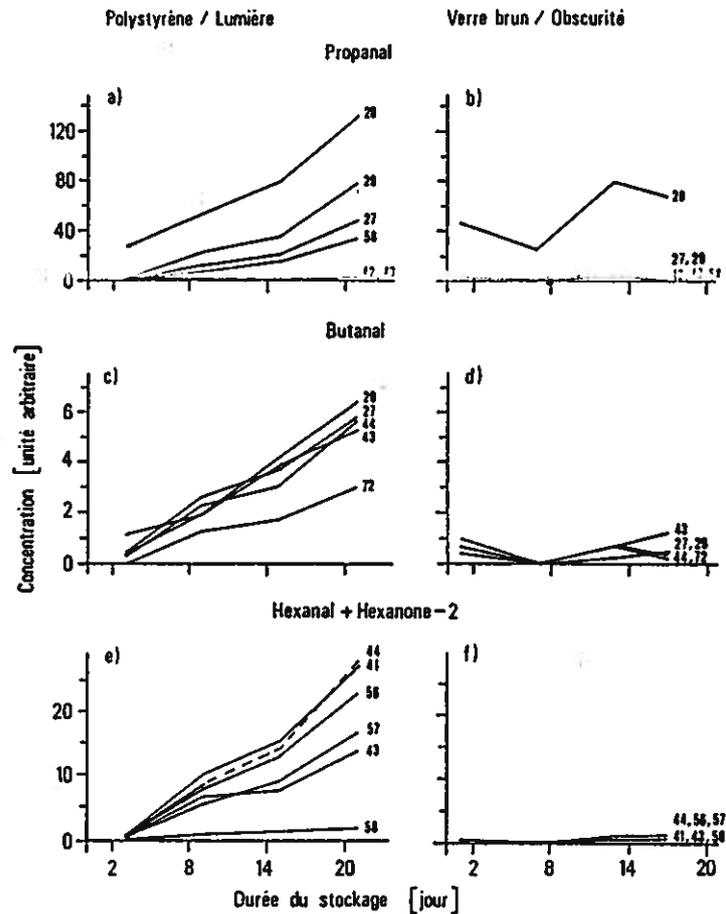


Fig. 10. Evolution de quelques composés carbonylés dans un yoghurt nature stocké dans deux conditions extrêmes quant à l'emballage et à l'éclairage utilisés

dernier avec les composants phénoliques naturels du bois est à l'origine du défaut d'odeur très typique perçu (38).

Comme exemple d'application d'une *stratégie à moyen terme*, on peut citer une étude, en cours d'évaluation (41), effectuée sur 50 fromages de type Emmental qui présentaient des qualités ou des défauts, à des degrés divers, tels que goûts amers ou impurs ou d'oxydation. Ces fromages ont fait l'objet de nombreuses analyses chimiques, biochimiques, rhéologiques et sensorielles parallèles. La figure 11 montre les pics – obtenus par une analyse instrumentale de type GC – que l'analyse statistique multivariée (régression linéaire multiple) attribue à quelques substances-clés d'un défaut de flaveur sur la base des résultats d'une analyse sensorielle effectuée par un jury de dégustateurs entraînés. La figure 12 présente une classification des mêmes fromages regroupés statistiquement en «bons», «amers» et «impurs» sur la base d'une combinaison de résultats d'analyses instrumentales (analyse discriminante, 11 régresseurs).

Comme exemples d'application de *stratégies à long terme*, on peut citer, outre la thèse de doctorat susmentionnée sur l'origine microbienne des arômes des produits laitiers fermentés, une étude de l'affinage du Gruyère (8, 11, 12), celle de l'influence du choix des cultures utilisées (34) ainsi que celle des conditions de

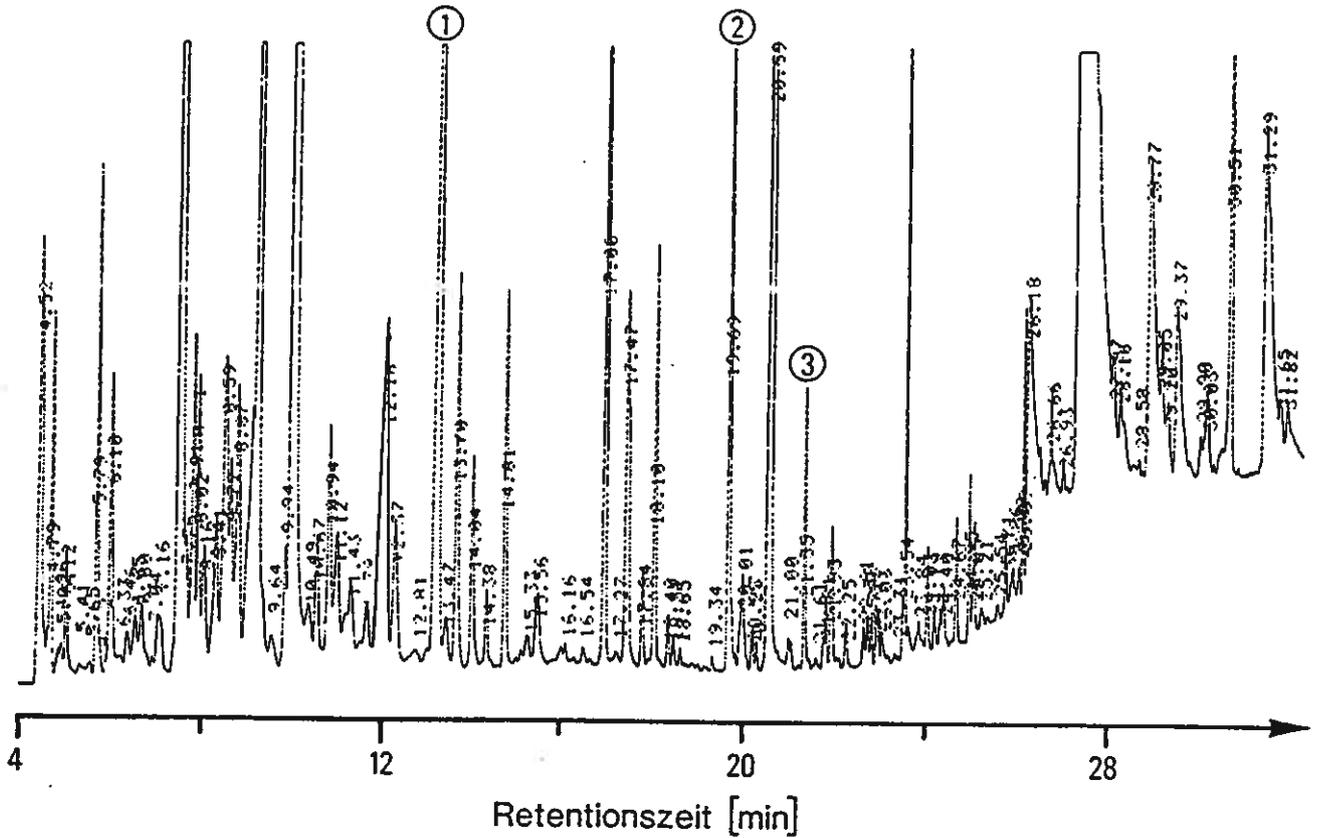


Fig. 11. Pics d'un chromatogramme de GC-FID qu'une analyse statistique multivariée (régression linéaire multiple) attribue à quelques substances volatiles clés d'un défaut de flaveur de l'Emmental sur la base des résultats d'une analyse sensorielle effectuée parallèlement

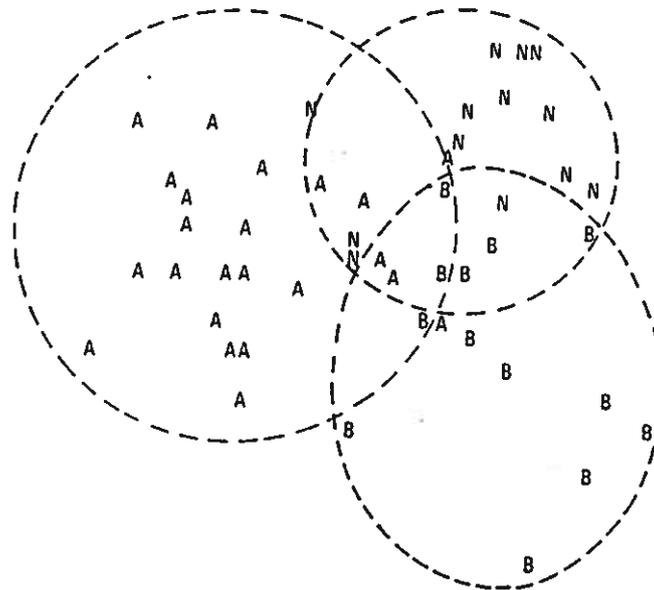


Fig. 12. Classement de 50 échantillons de fromages selon les critères sensoriels «normaux» (N), «amers» (B = Bitter) et «altérés» (A) établi par une analyse statistique multivariée de type discriminante utilisant 11 «régresseurs» fournis par des analyses instrumentales effectuées parallèlement

stockage sur la qualité des yoghourts (15a-c, 26a, b, 27). Ce dernier travail a d'ailleurs été effectué dans le cadre d'un projet interdisciplinaire partiellement financé par la CERS auquel ont participé une industrie alimentaire ainsi que l'Ecole suisse d'ingénieurs des industries graphique et de l'emballage (esig+) de Lausanne.

Possibilités et limites des recherches sur les arômes à la FAM

Les deux chapitres précédents ont déjà brièvement esquissé les principaux domaines d'application des techniques et des possibilités de l'analyse des arômes dans le cadre de la FAM: identifier un ou plusieurs composés nouveaux responsables en général d'un défaut de flaveur (goût ou odeur) sur la base d'un examen sensoriel préliminaire, afin de l'éviter dans la mesure du possible; chercher les relations existant entre les analyses sensorielles et instrumentales pour déterminer d'éventuels composants-clés; établir des voies métaboliques expliquant l'origine et la formation de composés de l'arôme dans les produits fermentés dans le but d'améliorer leur qualité et de diminuer leurs défauts.

De tels objectifs ont pourtant leurs limites, qui sont de deux ordres: les limites de nature purement analytique et celles, techniques, liées à la capacité même des laboratoires.

Au nombre des limites analytiques, il faut mentionner notamment:

- les problèmes liés à l'analyse qualitative des composés responsables de l'arôme, agréable ou non. S'il est volatil (odeur), donc analysable par GC-MS, le composé à identifier doit satisfaire aux conditions restrictives suivantes: être suffisamment bien séparé des autres composants du mélange (bonne résolution chromatographique); être en quantité ou en concentration suffisante (soit au-dessus de la limite de détection); son spectre de masse (MS) doit être présent dans la bibliothèque des spectres de base mémorisés dans l'ordinateur et doit être en outre assez propre (peu de bruit de fond) pour éviter toute erreur d'identification. Un dernier problème à noter est celui des contaminants et des artefacts. S'il s'agit d'un arôme non volatil (goût), il n'est généralement guère possible de l'identifier, la FAM ne disposant pas encore d'équipement (HP)LC-MS, comme déjà indiqué précédemment.
- Les difficultés inhérentes à l'analyse quantitative des composés responsables des arômes sont au moins aussi grandes. Le problème le plus délicat à résoudre est lié à l'effet de la matrice, c.-à-d. au fait que les autres composants majeurs de l'échantillon comme l'eau, la matière grasse et les protéines interviennent en tant que (co)solvants de l'arôme lors de son extraction (effets de compétition liés aux coefficients de partage entre les diverses phases en présence), quelle que soit la méthode d'extraction utilisée. Il faut en outre mentionner les inévitables pertes d'arômes lors de l'étape de concentration avant l'injection dans l'analyseur (le GC-MS). Pour ces diverses raisons, il est donc généralement exclu ou très difficile d'effectuer de véritables dosages quantitatifs des composants de l'arôme considéré. On doit donc souvent se contenter, dans la pratique, d'analyses

comparatives (à matrice donnée), à caractère semi-quantitatif. Comme pour les analyses quantitatives, la résolution chromatographique (séparation des pics correspondant à chaque composant du mélange) doit aussi être suffisante pour permettre l'intégration (mesure de la surface) de ces derniers.

Au nombre des limitations techniques – liées à la capacité même des laboratoires de préparer les échantillons, d'effectuer les analyses puis d'évaluer et d'interpréter les résultats – il faut mentionner que ce type d'analyse requiert beaucoup plus de temps et de travail que la plupart des dosages chimiques, biochimiques ou microbiologiques usuels. De telles analyses ne font pas partie des méthodes dites «de grande routine» de la FAM, mais doivent toujours être envisagées cas par cas, après discussion avec celui qui les sollicite et après un examen sensoriel préliminaire.

Conclusions et perspectives d'avenir

Au fil des ans, la FAM a développé un instrument analytique de choix en matière de recherche sur les arômes naturels du lait et des produits laitiers en général. Cet «instrument» est tout à fait comparable, du point de vue de son équipement, de ses méthodes et de ses performances, à celui dont disposent d'autres laboratoires

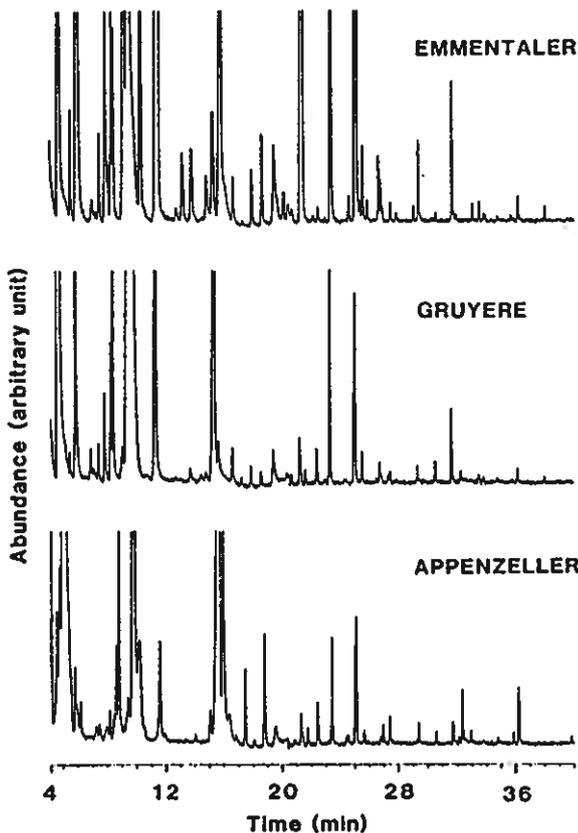


Fig. 13. Profil-type («finger print») des composés volatils (analysés par GC-MS) de 3 sortes de fromages

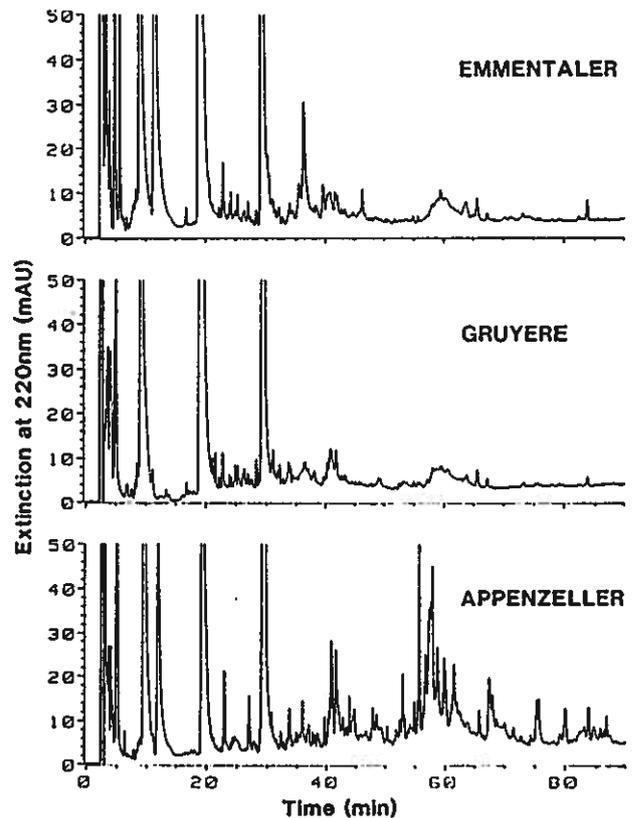


Fig. 14. Profil-type («finger print») des composés volatils (analysés par HPLC) de 3 sortes de fromages

équivalents en Suisse et à l'étranger. La dotation de ces laboratoires en matériel informatique moderne (PC) les rend des plus en plus aptes à des tâches tant de contrôle de la qualité que de recherche et de développement: dépistage de substances étrangères responsables de défauts d'odeur (GC) ou de goût (HPLC ou IEC) du lait et des produits laitiers, étude de l'influence protectrice de l'emballage, étude de l'affinage ou de l'influence des cultures utilisées, recherche de substances-clés permettant d'établir des corrélations avec l'analyse sensorielle. A long terme, ces travaux devraient aboutir à une meilleure compréhension de l'origine et de la diversité des goûts et des odeurs spécifiques de chaque produit laitier. Un très important travail se profile à l'horizon: caractériser chacun d'entre eux par un profil-type* (fig. 13 et 14) ainsi que déterminer ses fluctuations normales et ses tolérances, afin d'être en mesure d'élucider les anomalies liées à certains défauts de la flaveur. Tel est l'un des plus fascinants, mais difficiles défis proposés à ces laboratoires pour les années à venir, dans le but d'être toujours plus à même d'aider la FAM – et par elle l'économie laitière suisse en général – à résoudre les problèmes sans cesse plus complexes qui lui sont posés.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier leurs collègues *M. G.J. Steiger* et le Dr *R. Sieber* pour leurs précieux conseils et leurs pertinentes remarques à la lecture du manuscrit, ainsi que *M.R. Gauch* pour la soigneuse présentation des figures.

Résumé

La présente communication décrit quelques-unes des principales activités, passées et présentes, de la FAM en matière de recherche sur les arômes des produits laitiers. Elle rappelle les tâches spécifiques du laboratoire d'analyse des substances volatiles, qui utilise la chromatographie en phase gazeuse (GC), celles du laboratoire d'analyse des composés non volatils, qui recourt aux chromatographies liquide/liquide à haute performance (RP-HPLC et IEC) ainsi que celles du laboratoire d'analyse sensorielle à l'aide d'un jury de dégustateurs entraînés. Elle retrace ensuite le développement des équipements et des méthodes d'analyse mis en oeuvre au cours des 30 dernières années. Elle passe en revue les possibilités et les limites de ces approches en donnant quelques exemples d'engagements dits «à court, à moyen et à long terme». Dans sa conclusion, le présent article propose quelques perspectives d'avenir, parmi lesquelles on peut citer l'établissement de profils-types dans le but de mettre en évidence certains défauts de la flaveur (goût ou/et odeur).

* La composition de produits laitiers tels que les fromages demeure généralement assez constante du point de vue qualitatif (mêmes composants de base), mais peut fluctuer fortement du point de vue quantitatif (rapport de ces composants)

Zusammenfassung

Dieser Artikel behandelt die wichtigsten Aufgaben der FAM auf dem Gebiet der Aromaforschung in Milchprodukten. Dazu gehören spezifische Laborarbeiten zur Bestimmung von flüchtigen Substanzen mittels Gaschromatographie (GC) und von nichtflüchtigen Substanzen mit Hilfe der Flüssig-Flüssig-Chromatographie (RP-HPLC und IEC) sowie sensorische Analysen, die von geschulten Degustatoren ausgeführt werden. Im weiteren wird die Entwicklung der Analysenmethoden im Laufe der letzten 30 Jahre beschrieben. Die Möglichkeiten und Grenzen der Laboratorien werden mit Beispielen von kurz-, mittel- und langfristiger Zielsetzung beleuchtet. Schliesslich werden einige künftige Projekte erwähnt, so die Erstellung von Modellaromaprofilen zur Erfassung und Vermeidung von Geschmacks- und Geruchsfehlern.

Summary

This paper outlines FAM's main activities in the field of flavour research in dairy products. It deals with specific techniques for the determination of volatile components by gas chromatography (GC) and of non volatile flavours by means of liquid/liquid chromatography (RP-HPLC and IEC) as well as sensoric analyses carried out by trained panels. The development of the equipment and analytical techniques over the past 30 years is described. The potentials and limits of the laboratories are outlined and examples of short, medium and long term objectives are referred to. Finally, future projects are suggested such as the establishment of typical profiles for the detection and prevention of off-flavours.

Bibliographie

Liste de publications de la FAM ayant trait à la recherche sur les arômes (par ordre chronologique de parution)

1. Ritter, W., Schilt, P. und Lowe, A.: Untersuchungen über die Entwicklung von Peptiden und Aminosäuren im Käse. 17. Intern. Milchwirtschaftskongress D 2, 269–274 (1966).
2. Flückiger, E., Schilt, P. und Lowe, A.: Beitrag zur Kenntnis der Zusammensetzung in der Schweiz hergestellter konsumreifer Weichkäse. Schweiz. Landw. Forschung 11, 13–26 (1972).
3. Lavanchy, P.: Influence of various thermophilic lactic cultures on proteolysis of Swiss Emmental cheese. XXth Intern. Dairy Congress, 484–485 (1978).
4. Lavanchy, P., Bühlmann, C. und Blanc, B.: Vergleichende Untersuchungen in Emmentaler Käsen mit und ohne Nachgärung. II. Aminosäuren. Schweiz. Milchw. Forschung 9, 19–27 (1979).
5. Steffen, C., Glättli, H., Steiger, G., Flückiger, E., Bühlmann, C., Lavanchy, P. und Nick, B.: Vergleichende Untersuchungen in Greyerzer Käsen mit und ohne Nachgärung. I. Bakteriologische, biochemische, chemische und rheologische Untersuchungen. Schweiz. Milchw. Forschung 9, 19–27 (1979).
6. Steffen, C., Glättli, H., Steiger, G., Flückiger, E., Bühlmann, C., Lavanchy, P. und Nick, B.: Vergleichende Untersuchungen von Sbrinz-Käsen mit und ohne Nachgärung. I. Bak-

- teriologische, biochemische, chemische und rheologische Untersuchungen. Schweiz. Milchw. Forschung 10, 3-11 (1981).
7. Steffen, C., Glättli, H., Steiger, G., Flückiger, E., Bühlmann, C., Lavanchy, P., Nick, B., Schnider, J. und Rentsch, F.: Vergleichende Untersuchungen von Rohmilchtilsiterkäsen mit und ohne Nachgärung. Schweiz. Milchw. Forschung 11, 51-61 (1982).
 8. Liardon, R., Bosset, J.-O. and Blanc, B.: The aroma composition of Swiss Gruyere cheese. I. The alkaline volatile components. Lebensm.-Wiss. -Technol. 15, 143-147 (1982).
 9. Lavanchy, P. et Bühlmann, C.: Valeurs normales de certains paramètres importants du métabolisme pour des fromages fabriqués en Suisse. Schweiz. Milchw. Forschung 12, 3-12 (1983).
 10. Steffen, C., Glättli, H., Steiger, G., Flückiger, E., Bühlmann, C., Lavanchy, P., Nick, B., Schnider, J. und Rentsch, F.: Vergleichende Untersuchungen von Appenzeller Käsen mit und ohne Nachgärung (Bakteriologische, biochemische, chemische und rheologische Analysen). Schweiz. Milchw. Forschung 13, 51-58 (1984).
 11. Bosset, J.-O. and Liardon, R.: The aroma composition of Swiss Gruyere cheese. II. The neutral volatile compounds. Lebensm.-Wiss. -Technol. 17, 359-362 (1984).
 12. Bosset, J.-O. and Liardon, R.: The aroma composition of Swiss Gruyere cheese. III. Relative changes in the content of alkaline and neutral volatile components during ripening. Lebensm.-Wiss. -Technol. 18, 178-185 (1985).
 13. Lavanchy, P., Bühlmann, C. et Steiger, G.: Détermination des amines biogènes de quelques fromages fabriqués en Suisse. Schweiz. Milchw. Forschung 14, 3-6 (1985).
 14. Voilley, A. et Bosset, J.-O.: Nouvelle technique de détermination rapide de la volatilité de composants d'arôme dans des milieux à forte viscosité. Lebensm.-Wiss. -Technol. 19, 47-52 (1986).
 - 15a. Bosset, J.-O., Daget, N., Desarzens, C., Dieffenbacher, A., Flückiger, E., Lavanchy, P., Nick, B., Pauchard, J.-P. and Tagliaferri, E.: The influence of light transmittance and gas permeability of various packaging materials on the quality of whole natural yoghurt during storage. In: Mathlouthi, M. (ed.), Food, packaging and preservation. Theory and practice, p. 235-269. Applied Science Publ., London 1986.
 - 15b. Bosset, J.-O., Daget, N., Desarzens, C., Dieffenbacher, A., Flückiger, E., Lavanchy, P., Nick, B., Pauchard, J.-P. et Tagliaferri, E.: Influence de la translucidité et de la perméabilité aux gaz de différents matériaux d'emballage sur la qualité du yogourt entier nature en cours de stockage. Lebensm.-Wiss. -Technol. 19, 104-116 (1986).
 - 15c. Bosset, J.-O. und Flückiger, E.: Einfluss der Licht- und Gasdurchlässigkeit verschiedener Packungsarten auf die Qualitätserhaltung von Naturjoghurt. Dt. Milchwirt. 29, 908-914 (1986).
 16. Gmür, W., Bosset, J.-O. und Plattner, E.: Löslichkeit von einigen Käseinhaltstoffen in überkritischem Kohlendioxid. Lebensm.-Wiss. -Technol. 19, 419-425 (1986).
 17. Gmür, W., Bosset, J.-O. und Plattner, E.: Fluidextraktion und Fluidchromatographie: Eine kritische Literaturübersicht über die Zeitspanne 1962-1985. I. Physikalisch-chemische Eigenschaften überkritischer Gase. Lebensmittel-Technologie 19, 194-197 (1986).
 18. Gmür, W., Bosset, J.-O. und Plattner, E.: Fluidextraktion und Fluidchromatographie: Eine kritische Literaturübersicht über die Zeitspanne 1962-1985. II. Fluidextraktion. Lebensmittel-Technologie 19, 226-228 (1986).
 19. Gmür, W., Bosset, J.-O. und Plattner, E.: Fluidextraktion und Fluidchromatographie: Eine kritische Literaturübersicht über die Zeitspanne 1962-1985. III. Fluidchromatographie. Lebensmittel-Technologie 20, 2-11 (1987).

20. *Gmür, W., Bosset, J.-O. und Plattner, E.:* Beitrag zur direkten Kopplung Fluidextraktion – Kapillarfluidchromatographie. I. Theoretische Optimierung einiger wichtiger apparativer Parameter. *J. Chromatogr.* 388, 143–150 (1987).
21. *Gmür, W., Bosset, J.-O. und Plattner, E.:* Beitrag zur direkten Kopplung Fluidextraktion – Kapillarfluidchromatographie. II. Aufbau eines Prototyps und Anwendungsbeispiele. *J. Chromatogr.* 388, 335–349 (1987).
22. *Gmür, W., Bosset, J.-O. und Plattner, E.:* Beitrag zur direkten Kopplung Fluidextraktion – Kapillarfluidchromatographie. III. Experimentelle Optimierung des Druck- und Temperaturprogrammes in der Fluidchromatographie im Hinblick auf die Analyse von Milchprodukten. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* 78, 21–35 (1987).
23. *Gmür, W., Bosset, J.-O. und Plattner, E.:* Aufbau und Überprüfung eines neuen Photoionisationsdetektors für die Fluidchromatographie. *Chromatographia* 23, 199–204 (1987).
24. *Gmür, W.:* Beitrag zur Entwicklung der direkten Kopplung zwischen Fluidextraktion und Kapillarfluidchromatographie und Überprüfung zur Analytik von Lebensmittel-Aromastoffen. Thèse No 655 (1986), 195 S., acceptée par le jury composé de: Plattner, E. (rapporteur), Bosset, J.-O., Kovats, E., Flament, I. et Schneider, G.M. (corapporteurs) Lausanne, EPFL 1987.
25. *Bosset, J.-O. und Gauch, R.:* Einfache Probenvorbereitung zur quantitativen «Multiple Headspace» – Bestimmung flüchtiger Komponenten mit Hilfe von Adsorptionspatronen. *J. Chromatogr.* 456, 417–420 (1988).
- 26a. *Bosset, J.-O. et Gauch, R.:* Effet protecteur de l'emballage contre la photo-oxydation. I. Etude par GC-MS de quelques composés carbonylés et du méthional dans divers yoghourts en cours de stockage. *Trav. chim. aliment. hyg.* 79, 165–174 (1988).
- 26b. *Bosset, J.-O., Daget, N., Desarzens, C., Dieffenbacher, A., Gauch, R., Tagliaferri, E. et Trisconi, M.-J.:* Effet protecteur de l'emballage contre la photo-oxydation. Information FAM & Nestec SA & ésig+, juin 1989/183W.
27. *Bosset, J.-O. und Flückiger, E.:* Die Verpackung als Mittel zur Qualitätserhaltung von Lebensmitteln, dargestellt am Beispiel der Lichtschutzbedürftigkeit verschiedener Joghurtsorten. *Lebensm.-Wiss.-Technol.* 22, 292–300 (1989).
28. *Imhof, R. und Bosset, J.-O.:* Einfache quantitative photometrische Bestimmung von «Gesamt»-Carbonylkomponenten in biologischen Medien. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* 88, 409–419 (1989).
29. *Klein, B., Bosset, J.-O. and Gauch, R.:* Comparison of Four Extraction, Concentration and Injection Techniques for Volatile Compounds Analysis by GC-MS: An Application to the Study of the volatile Flavour of Swiss Emmentaler Cheese. In: Bessièrè, Y. and Thomas, A.F. (ed), *Flavour science and technology*, p. 205–208. J. Wiley & Sons Limited, Chichester 1990.
30. *Bütikofer, U., Fuchs, Doris, Hurni, D. und Bosset, J.-O.:* Beitrag zur Bestimmung biogener Amine in Käse: Vergleich einer verbesserten HPLC- mit einer IEC-Methode und Anwendung bei verschiedenen Käsesorten. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* 81, 120–133 (1990).
31. *Bosset, J.-O., Imhof, Miroslava I. und Steiger, G.:* Die Bestimmung der freien Fettsäuren in Milch und Rahm. I. Entwicklung einer automatisierten potentiometrischen Titrationsmethode in nichtwässrigem Milieu und Vergleich mit der visuellen Titration nach Deeth. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* 81, 296–318 (1990).
32. *Bosset, J.-O., Imhof, Miroslava I. und Bütikofer, U.:* Die Bestimmung der freien Fettsäuren in Milch und Rahm. II. Auswertung eines Ringversuches mit der visuellen und der potentiometrischen Titrationsmethode. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* 81, 296–318 (1990).

33. Eyer, H., Gauch, R. und Bosset, J.-O.: Untersuchung des Fehlromas «Fischig» in Kaffeeahm. Schweiz. Milchw. Forschung 19, 43–45 (1990).
34. Imhof, R., Isolini, D. und Bosset, J.-O.: Vergleich der Produktion einiger flüchtiger Aromakomponenten in Greyerzerkäsen und Kulturüberständen zwischen homofermentativen und heterofermentativen Lactobacillen. Lebensm.-Wiss. -Technol. 23, 305–311 (1990).
35. Bovay, P.: Contribution à la modélisation des équilibres caractérisant l'extraction surcritique de quelques arômes du fromage et vérification de cas particuliers. Thèse No 837 (1990), 179 p., acceptée par le jury composé de: Plattner, E. (rapporteur), Bosset, J.-O. et Nguyen, D.-L. (corapporteurs) Lausanne, EPFL 1990.
36. Bütikofer, U., Fuchs, D., Bosset, J.-O. and Gmür, W.: Automated HPLC-amino acids determination of protein hydrolysates by precolumn derivatization with OPA and FMOF and comparison with classical ion exchange chromatography. Chromatographia (in press).
37. Bütikofer, U., Fuchs, D., Bosset, J.-O. and Gmür, W.: Automated HPLC-determination of free amino acids by precolumn derivatization with OPA and FMOF and comparison with classical ion exchange chromatography. Chromatographia (in preparation).
38. Bosset, J.-O. et Gauch, R.: Le lavage et la désinfection des plateaux en bois à l'aide de produits contenant du chlore actif: une source de graves défauts pour la flaveur des fromages. Laitier Romand (en préparation).
39. Bütikofer, U., Baumann, E. und Bosset, J.-O.: RP-HPLC-Bestimmung von Peptiden in Käse und ihre Anwendung zur Untersuchung der Bitterkeit (in Vorbereitung).
40. Bosset, J.-O., Gauch, R. and Klein, B.: The volatile flavour of Swiss Emmentaler cheese: Comparison of four extraction concentration and injection techniques for volatile compounds analysis by GC-MS. Lebensm.-Wiss. -Technol. (in preparation).
41. Bosset, J.-O. et al.: Sensorische und instrumentelle Untersuchungen des Aromaprofils von Schweizer Emmentalerkäsen mit Hilfe der multivariat-Statistik. Lebensm.-Wiss. und -Technol. (in Vorbereitung).

Autres références bibliographiques d'intérêt général sur ce sujet

42. Dumont, J.P. and Adda, J.: Flavour formation in dairy products. In: Land, D.G. and Nursten H.E. (ed.). Progress in flavour research, p. 245–262. Applied Science Publishers Ltd, London 1979.
43. Behnke, U.: Zur Biogenese des Käsearomas. Nahrung 24, 71–83 (1980).
44. Law, B.A.: The formation of aroma and flavour compounds in fermented dairy products (a review article). Dairy Science Abstracts 43, 143–154 (1981).
45. Marshall, V.M.E.: Flavour development in fermented milks. In: Davies, F.L. and Law, B.A. (ed), Advances in the microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk, p. 153–186. Elsevier Applied Science Publishers, London and New York 1984.
46. Law, B.A.: Flavour development in cheeses. In: Davies, F.L. and Law, B.A. (ed), Advances in the microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk, p. 187–208. Elsevier Applied Science Publishers, London and New York 1984.
47. Adda, J.: Formation de la flaveur. In: Eck, A., coordonnateur. Le fromage, p. 330–340. Diffusion Lavoisier, Paris 1984.
48. Nursten, H.E.: Developments in research on the flavour of foods. In: McLoughlin, J.V. and McKenna, B.M. (ed), Food science and human welfare, p. 183–221. Boole Press, Dublin 1984.

49. *Flury, B. und Riedwyl, H.*: Angewandte multivariate Statistik – Computergestützte Analyse mehrdimensionaler Daten. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart & New York 1983.
50. Anon.: Combined Wiley/NBS Database: Mass Spectra Library with PBM format. Hewlett-Packard No HP 59983K Widen 1988.
51. *ten Noever de Brauw, M.C., Bouwman, J., Tas, A.C. and Miss La Vos, G.F.*: Compilation of mass spectra of volatile compounds in food. Central Institute for Nutrition and Food Research – TNO-CIVO 3700 AJ Zeist (The Netherlands) 1979–1986.
52. *Jelinek, G.*: Sensorische Lebensmittel-Prüfung: Lehrbuch für die Praxis. Verlag Doris & Peter Siegfried, D-3017 Pattensen 1981.

Dr J.O. Bosset
Dr P. Lavanchy
Station fédérale de recherches laitières
CH-3097 Liebefeld-Berne

Petit glossaire de quelques termes techniques utilisés

La chromatographie est une technique analytique permettant la séparation chimico-physique des constituants d'un mélange. Ce terme vient du grec où il signifie "écriture des couleurs", cette technique ayant été appliquée tout au début à la séparation des composants des colorants.

Le chromatographe est l'analyseur qui permet de telles séparations. Il se compose toujours d'un injecteur, d'une colonne chromatographique et d'un détecteur. L'injecteur assure l'injection du mélange dans la colonne. Celle-ci réalise la séparation proprement dite. Le détecteur, monté à la sortie de la colonne, assure la détection (analyse qualitative) et/ou la quantification (analyse quantitative) des constituants une fois séparés, en les convertissant en signaux électriques. Leur enregistrement graphique en fonction du temps de chromatographie fait apparaître des "pics" dont la surface est proportionnelle à la concentration des substances analysées. Le coefficient de proportionnalité de ces dernières est appelé facteur de réponse du détecteur utilisé. On peut le mesurer par un calibrage avec chaque substance pure.

La colonne chromatographique est un conduit de section circulaire, de longueur et de diamètre très différents selon le type de chromatographie envisagé. En chromatographie capillaire gaz/liquide ou gaz/solide (dite aussi "en phase gazeuse" GC), il s'agit en général d'un tube filiforme très long et très fin (par ex. $L = 50 \text{ m}$, $\varnothing = 0,25 \text{ mm}$). En chromatographie liquide / liquide à hautes performances (HPLC), il s'agit au contraire d'un tube court et gros (par ex. $L = 0,2 \text{ m}$, $\varnothing = 1 \text{ cm}$). La colonne chromatographique contient toujours un constituant fixe, la phase stationnaire qui est parcourue par une phase mobile ou l'éluant, qui entraîne les substances à séparer de l'injecteur jusqu'au détecteur. En GC, l'éluant est un gaz, en HPLC, un liquide ou un mélange de liquides. Plus grande est l'"affinité" (solubilité, adsorption etc.) des substances chromatographiées pour la phase stationnaire, plus grand est le temps (dit de rétention) nécessaire pour traverser la colonne. Plus différenciés sont lesdits temps de rétention des composants d'un mélange, meilleure sera la séparation (ou la résolution) chromatographique.

Parmi le grand nombre de détecteurs utilisés en GC, il faut mentionner les principaux cités dans cet article: le détecteur à spectrométrie de masse (MS ou MSD) et le détecteur à ionisation de flamme (FID). Dans le premier (MS ou MSD), les substances, une fois séparées par la colonne chromatographique, sont fragmentées et ionisées par collision avec un faisceau d'électrons. Les ions obtenus sont accélérés dans un champ électrique, puis déviés dans leur trajectoire par un champ magnétique. Chaque ion peut alors être détecté et mesuré, en effectuant un balayage du spectre des masses. Cette technique permet des analyses tant qualitatives que quantitatives. Le détecteur à ionisation de flamme ionise également les substances en les faisant brûler dans une microflamme, mais les ions ainsi obtenus ne peuvent pas être séparés selon leur masse. L'analyse n'est donc que quantitative, sans possibilité d'identification de la substance. Les principaux détecteurs utilisés en HPLC sont des détecteurs sensibles à la lumière absorbée (dans l'ultraviolet ou le visible) ou émise (fluorescence) par les substances analysées.

La limite de détection est la concentration ou la masse minimale d'une substance nécessaire pour permettre sa détection. Elle dépend du bruit de fond dû aux courants électriques résiduels de l'analyseur (le signal

électrique produit par une substance doit être au moins égal au double ou au triple du bruit de fond électrique de l'analyseur). L'effet de matrice est le nom donné aux interférences dues au milieu analysé (par ex. le produit laitier analysé) et qui gênent l'analyse. Les artefacts sont les substances inconnues qui peuvent être confondues avec d'autres substances présentant soit le même temps de rétention dans la colonne de séparation, soit le même spectre de masse.