

11 MARS 1998



16^{èmes} Journées Internationales
Huiles Essentielles

3, 4, 5 & 6 SEPTEMBRE 1997

PRODUCTION ET ETUDE
DES MATIERES VEGETALES
AROMATIQUES

COMITÉ SCIENTIFIQUE

Président: Dr Louis PEYRON (Grasse)
Pr DERBESY (E.S.C.M. Marseille)
Dr FLAMENT (Firmenich - Genève)
M. KOSSIAKOFF (IFF)
Dr MARION (Nestec - Vevey)
M. PELLERIN (CAL - Grasse)
Dr PICKENHAGEN (Dragoco - U.S.A.)
Dr RICHARD (ENSIA - Massy)
Dr TOUCHE (C.E.A.M.S. - Avignon)
M. ZOLA (Adrian - Marseille)

COMITÉ D'ORGANISATION
APPAM

Président: Yves COMTE
M. ALLARI
M. BONEBEAU
M. BOYER
M. CARTERON
M. FERAUD
Mme ROSI

SECRETARIAT:

Mme FRISON Marylou

994293
16-03-98

LES CHAMPIGNONS SUPERIEURS (BASIDIOMYCETES) : SOURCE COMBINEE D'AROMES ET DE COLORANTS

Isabelle BAREAU*, Sophie BREHERET*, Sylvie RAPIOR**, Gérard VILAREM*,
Thierry TALOU*, Jean-Marie BESSIERE***

* Laboratoire de Chimie-Agroindustrielle, Institut National Polytechnique de Toulouse, Ecole Nationale Supérieure de Chimie, 31077 TOULOUSE Cedex.

** Laboratoire de Botanique, Phytochimie et Mycologie, Faculté de Pharmacie, 34060 MONTPELLIER Cedex 2.

*** Laboratoire de Chimie Appliquée, Ecole Nationale Supérieure de Chimie, 34296 MONTPELLIER Cedex 5.

INTRODUCTION

Le secteur industriel s'oriente de plus en plus vers la recherche de nouvelles sources de molécules dites « naturelles », offrant la possibilité de substituer certains additifs synthétiques par des molécules plus respectueuses de l'Homme et de son Environnement. Les champignons supérieurs (Basidiomycètes), présentant des odeurs et des couleurs très variées, semblent être une voie prometteuse dans cette recherche de biomolécules pour les industries Alimentaires, Cosmétiques et Textiles (Breheret *et al.*, 1997 ; Champroux, 1985 ; Rapior *et al.*, 1997 ; Rice et Beebe, 1980).

La girolle (*Cantharellus cibarius*), réputée et appréciée pour son odeur fruitée caractéristique (mirabelle), semble être également une source intéressante de colorants.

Trois autres champignons, *Chroogomphus rutilus*, *Cortinarius cinnamomeus* et *Cortinarius violaceus* possèdent des propriétés aromatiques et colorantes importantes pour cette recherche de molécules d'origine naturelle.

PROCEDURES EXPERIMENTALES

⇒ **Matériel végétal.** *Cantharellus cibarius* (Fr.:Fr.) Fr. *Chroogomphus rutilus* (Sch.:Fr.) Miller, *Cortinarius cinnamomeus* (L.) Fr. (= *Dermocybe cinnamomea*) et *Cortinarius violaceus* (L.:Fr.) Fr. ont été collectés en automne 1994 et 1995 en France. Les champignons ont été identifiés par l'un d'entre nous (S.R.) sur la base de la classification de Courtecuisse et Duhem (1994).

⇒ Etude des aromes

⇒ **Analyse directe des effluves (Headspace).** Les effluves de *Cantharellus cibarius* et *Cortinarius cinnamomeus* ont été analysés par Headspace. Les champignons frais coupés en cubes, sont placés dans une cellule en verre (0,25 L), directement connectée à un système concentrateur des effluves (Système CHISA-SGE). Les produits volatils sont concentrés sur un piège en TENAX avec un gaz de balayage (Helium) de 30 mL/min pendant 20 minutes à température ambiante.

⇒ **Extraction par solvant.** Les carpophores frais de *Cantharellus cibarius* et *Chroogomphus rutilus*, coupés en cubes, ont été utilisés pour l'extraction par solvant. Les composés volatils sont extraits par macération dans le dichlorométhane pendant 24 heures à température ambiante.

⇒ **Analyse des composés volatils par Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse.** Les analyses sont réalisées à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (5890-Hewlett-Packard) couplé à un détecteur de masse (5971-Hewlett-Packard; 70 eV, ionisation à impact électronique).

L'analyse directe des effluves est réalisée à l'aide d'un injecteur headspace (Système CHISA-SGE). Les composés volatils sont séparés sur une colonne capillaire BP1 (50 m x 0,22 mm x 1 µm diméthylpolysiloxane). La pression du gaz vecteur (Helium) est fixée à 1,8 bars. Les températures respectives de l'injecteur et du détecteur sont de 210°C et 250°C. La programmation de température utilisée est de 50°C à 220°C (3°C/min).

L'analyse des extraits est réalisée sur une colonne capillaire DB1 (25 m x 0,25 mm x 0,13 µm diméthylpolysiloxane). La pression du gaz vecteur (Helium) est de 0,9 mL/min. Les températures respectives de l'injecteur et du détecteur sont de 200°C et 220°C. La programmation de température utilisée est de 60°C (2 min) à 200°C (4°C/min).

⇒ Etude des colorants

⇒ **Extrait coloré de la girolle.** Les carpophores séchés et broyés de *Cantharellus cibarius* sont mis à macérer dans de l'acétone pendant 1 heure. Après filtration, l'ajout d'eau à l'extrait acétonique permet d'effectuer une co-extraction de ce dernier à l'éther de pétrole. L'éther de pétrole, contenant les caroténoïdes de la girolle, est analysé directement par Spectrocolorimétrie.

⇒ **Extraits colorés des autres champignons.** *Chroogomphus rutilus*, *Cortinarius cinnamomeus* et *Cortinarius violaceus* sont séchés et broyés avant d'être mis à macérer dans une solution hydrométhanolique (2:8) pendant 10 minutes à température ambiante sous ultra-sons. Les extraits obtenus sont filtrés sur seringue au moyen d'un filtre Millipore de 0,45 µm avant d'être analysés par Spectrocolorimétrie.

⇒ **Analyse des extraits colorés par spectrocolorimétrie.** Les analyses sont réalisées à l'aide du spectrocolorimètre Minolta CM 508I couplé au logiciel Chromacontrol.

La coloration des extraits obtenus est définie sous illuminant D65 dans l'espace couleur L*a*b* (ou CIELAB) dans lequel:

- L* représente la clarté ou luminance,
- a* et b* sont les coordonnées de chromaticité.

Chaque extrait est analysé par rapport au solvant de dilution pris comme référence, à savoir:

- l'éther de pétrole pour *Cantharellus cibarius*,
- le mélange eau-méthanol (2:8) pour les autres champignons.

RESULTATS ET DISCUSSION

⇒ *Cantharellus cibarius*

L'analyse directe des effluves par Headspace de *Cantharellus cibarius* frais révèle la présence majoritaire de composés en C8 tels que l'oct-1-èn-3-ol (37,2%) et les isomères Z et E de l'octa-1,3-diène (32% et 19%, respectivement). Les composés en C8 sont responsables de l'odeur caractéristique fongique de nombreux champignons (Cronin et Ward, 1971 ; Maga, 1981 ; Mau *et al.*, 1994 ; Pyysalo, 1976 ; Tressl *et al.*, 1982). Les effluves analysées comportent également des monoterpènes, comme l' α -pinène, le camphène ou le limonène participant à l'arome particulier et très typé de la girolle (Tableau 1).

L'extrait solvant (dichlorométhane) de la girolle est également très riche en oct-1-èn-3-ol (43,6%) mais contient également un nombre important de composés plus « lourds » tels que des sesquiterpènes, des lactones...(Tableau 1).

Composé identifié	Echantillon Headspace		Extrait solvant	
	Indice de Kovats*	Pourcentage relatif***	Indice de Kovats**	Pourcentage relatif***
hexanal			782	0,4
(Z)-octa-1,3-diène	817	32	815	0,3
(E)-octa-1,3-diène	820	19		
acide valérique			900	0,4
α -pinène	938	0,5		
benzaldéhyde			938	0,8
2-éthylhex-2-énal	947	0,4		
camphène	953	0,8		
oct-1-èn-3-one	956	0,3	958	0,2
oct-1-èn-3-ol	965	37,2	966	43,6
octan-3-one	966	5,4	962	0,2
octan-3-ol	980	1,1	983	0,3
(Z)-octa-1,5-diène-3-ol			985	0,2
(E)-octa-1,5-diène-3-ol			1002	0,1
hexanoate de méthyle			1002	4,6
limonène	1028	0,3		
oct-3-èn-1-ol	1035	0,3		
(E)-octèn-2-ol	1049	1,5	1056	4,8
nonanal			1065	0,3
acide heptanoïque			1145	2,8
nonanol			1160	0,5
acide octanoïque			1253	0,5
cinnamate de méthyle			1281	0,2
(2E,4Z)-décadienal			1304	1,8
(2E,4Z)-décadienal			1345	8,9
acétone de géranyle			1468	0,5
dihydroactinidiolide			1485	0,6

* Indice de Kovats observé sur colonne BP1

** Indice de Kovats observé sur colonne DB1

*** Les pourcentages des composés volatils identifiés dans le tableau 1 sont déterminés à partir des aires des pics relatifs à chaque composé sur le chromatogramme obtenu par CG/SM.

Tableau 1: Composés volatils identifiés dans l'échantillon Headspace et l'extrait solvant de *Cantharellus cibarius*.

A côté de son arôme fruité présentant un intérêt considérable pour l'industrie de l'Alimentaire et de la Parfumerie, la girolle fournit également un extrait de coloration jaune très intense pouvant être utilisé au niveau industriel (industries Alimentaires, Textiles...).

Les molécules responsables de cette coloration ont été identifiées comme étant des caroténoïdes, réputés et utilisés pour leurs propriétés colorantes (Cardon, 1990 ; Rice et Beebee, 1980 ; Stricker *et al.*, 1981).

L'analyse par Spectrocolorimétrie permet de quantifier cette coloration (Figures 1 et 2).

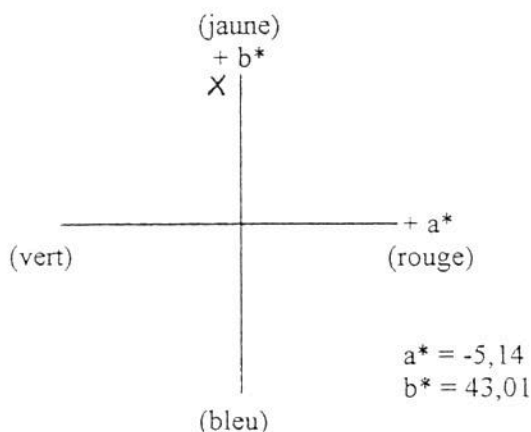


Figure 1 : Diagramme de chromaticité



Figure 2 : Echelle de clarté ou luminance

Outre la coloration d'un jaune très pur de l'extrait, mise en évidence par la forte dominance jaune (b^*) du résultat, il est intéressant de noter la luminance (L^*) relativement élevée qui confère à la coloration un aspect particulièrement avantageux.

⇒ Autres champignons

L'analyse Headspace des carpophores frais de *Cortinarius cinnamomeus* révèle un pourcentage très élevé d'oct-1-èn-3-ol (71,8%) au niveau des effluves. Ce composé est associé à d'autres molécules en C8, telles que l'octan-3-one (12,2%) et l'octène (5,3%), ainsi qu'à deux monoterpènes, le β -phellandrène et le limonène (Tableau 2).

L'extrait solvant de *Chroogomphus rutilus* se caractérise par la présence majoritaire d'oct-1-èn-3-ol (20%) ainsi que de deux composés plus « lourds », l'acétone de géranyle et le (E,E)-farnésol dont les pourcentages relatifs sont de 16% (Tableau 3).

Composé identifié	Indice de Kovats	Pourcentage relatif
hexan-2-one	750	tr
octène	785	5,3
(Z)-octa-1,3-diène	817	4,8
éthylbenzène	850	tr
<i>p</i> - et/ou <i>m</i> -xylène	860	tr
<i>o</i> -xylène	883	tr
α -pinène	938	tr
oct-1-èn-3-one	956	tr
oct-1-èn-3-ol	965	71,8
octan-3-one	966	12,2
β -phellandrène	1028	3,9
limonène	1028	1

Tableau 2: Composés identifiés par Headspace chez *C. cinnamomeus*

Composé identifié	Indice de Kovats	Pourcentage relatif
oct-1-èn-3-one	948	2
oct-1-èn-3-ol	965	20
2,5-dihydroxycyclohexa-2,5-diène-1,4-dione	1125	8
acétate de géranyle	1353	7
4-pyridine carboxamide	1415	2
acétone de géranyle	1450	16
(E,E)-farnésol	1720	16
(E,E)-acétate de farnésyle	1844	6

Tableau 3 : Composés volatils identifiés dans l'extrait solvant de *C. rutilus*

Chroogomphus rutilus, *Cortinarius cinnamomeus* et *Cortinarius violaceus* présentent également un intérêt particulier puisqu'à coté de leurs arômes, conférant respectivement une odeur de prune (légèrement), de radis et de bois de cèdre à ces champignons, ils sont selon les espèces une source de colorant rouge ou orangé.

Chroogomphus rutilus, *Cortinarius cinnamomeus* et *Cortinarius violaceus* sont riches en molécules quinoniques donnant, selon l'espèce, cette teinte rouge ou orangé aux extraits hydrométhanoliques (Archard *et al.*, 1985 ; Beurienne, 1994 ; Gill et Smrdel, 1987 ; Nielloud, 1990 ; Piattelli *et al.*, 1992).

L'analyse par Spectrocolorimétrie des extraits colorés obtenus permet de quantifier chaque coloration par les données numériques L^* , a^* et b^* , reflétant les différences de teinte entre ces trois champignons (Figures 3 et 4).

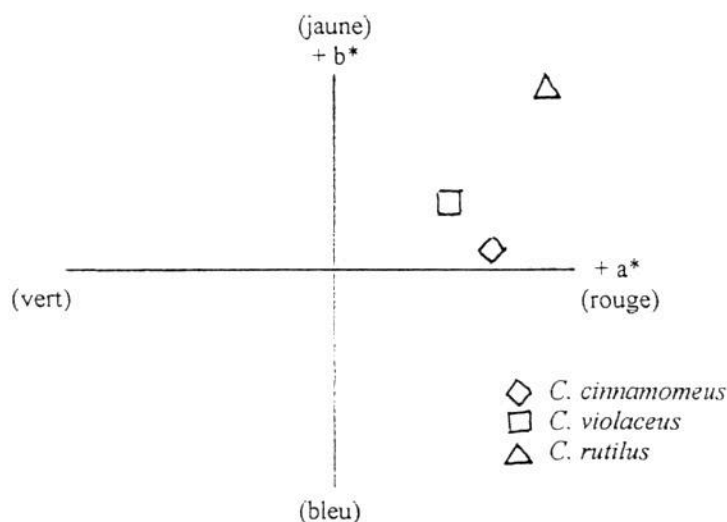


Figure 3 : Diagramme des couleurs

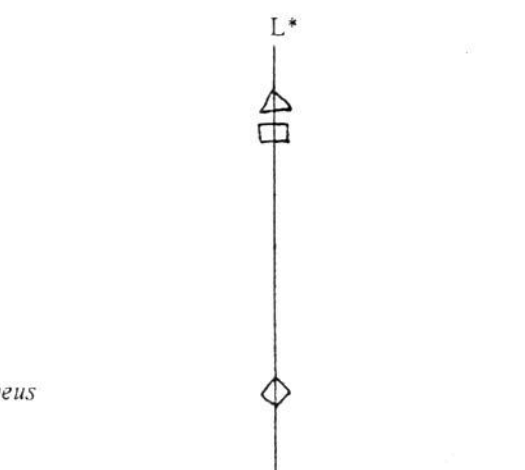


Figure 4 : Echelle de clarté ou luminance

Avec :

C. cinnamomeus: $a^* = 30,71$ $b^* = 29,75$ $L^* = 17,60$
C. violaceus: $a^* = 22,55$ $b^* = 49,84$ $L^* = 41,55$
C. rutilus: $a^* = 53,72$ $b^* = 94,87$ $L^* = 55,45$

La position de chaque extrait dans le diagramme des couleurs met en évidence une tendance beaucoup plus rouge de la coloration de l'extrait de *C. cinnamomeus* que celle des deux autres extraits qui présentent une composante jaune plus marquée. Cette composante jaune donne aux extraits de *C. rutilus* et *C. violaceus* une teinte plus orangée.

C. cinnamomeus diffère également des deux autres champignons par la luminance obtenue ($L^* = 17,60$) qui est très inférieure à celle de *C. rutilus* et *C. violaceus*.

CONCLUSION

Cantharellus cibarius, *Chroogomphus rutilus*, *Cortinarius cinnamomeus* et *Cortinarius violaceus* se sont révélés être une source combinée d'arômes et de colorants. Parmi ceux-ci, la girolle apparaît particulièrement intéressante puisqu'à coté de son arôme très typé elle fournit également un extrait colorant jaune pouvant offrir de nombreuses applications industrielles. Les trois autres champignons, *Chroogomphus rutilus*, *Cortinarius cinnamomeus* et *Cortinarius violaceus*, ne présentant pas un arôme aussi avantageux que celui de la girolle, pourraient cependant du fait de la présence de colorants rouges, trouver leur place au sein de nouveaux marchés dans les industries Agroalimentaires, Cosmétiques et Textiles.

BIBLIOGRAPHIE

- Archard M., Gill M. et Strauch R.J., 1985. Anthraquinones from the genus *Cortinarius*. *Phytochem.*, 24, 2755-2758.
- Breheret S., Talou T., Rapior S. et Bessière J.M., 1997. Monoterpenes in the aromas of fresh wild mushrooms (Basidiomycetes). *J. Agric. Food Chem.*, 45, 831-836.
- Beurienne C., 1994. Les Cortinaires. Thèse Pharmacie, Rouen.
- Cardon D., 1990. Guide des teintures naturelles. Ed. Delachaux et Niestlié, Lausanne, Suisse, 399 p.
- Champroux C., 1985. Principaux pigments colorés des Macromycetes. Thèse Pharmacie, Reims.
- Courtecuisse R. et Duhem B., 1994. Guide des champignons de France et d'Europe. Ed. Delachaux and Niestlié, Lausanne, Suisse, 476 p.
- Cronin D.A. et Ward M.K., 1971. The characterisation of some mushroom volatiles. *J. Sci. Food Agric.*, 22, 477-479.
- Gill M. et Smrdel F., 1987. Deoxyaustrocortilutein and deoxyaustrocortirubin, tetrahydroanthraquinones from the genus *Cortinarius*. *Phytochem.*, 26, 2999-3001.
- Maga J.A., 1981. Mushroom Flavor. *J. Agric. Food Chem.*, 29, 1-4.
- Mau J., Beelman R.B. et Ziegler G.R., 1994. Aroma and flavor components of cultivated mushrooms. *In Spices, Herbs and Edible Fungi*. Charalambous G., Ed. Elsevier, Amsterdam, Netherlands.
- Nielloud F., 1990. Pigments quinoniques chez les Cortinaires. Thèse Pharmacie, Montpellier I.
- Piattelli M., Geraci C., Lambusta D. et Cianci P., 1992. Polyprenyl Hydroquinones from *Chroogomphus rutilus*. *Planta Med.*, 58, 383-384.
- Pyysalo H., 1976. Identification of volatile compounds in seven edible fresh mushrooms. *Acta Chem. Scand.*, B20, 235-244.
- Rapior S., Breheret S., Talou T. et Bessière J.M., 1997. Volatile flavor of fresh *Marasmius alliaceus* (Garlic *Marasmius*). *J. Agric. Food Chem.*, 45, 820-825.
- Rice M. et Beebee D., 1980. Mushrooms for color. Ed. Mad River Press Inc, California, 133 p.
- Stricker R., Romailier G., Turian G., et Tzanos D., 1981. Production et Applications Alimentaires d'un Pigment Jaune Hydrosoluble d'Origine Fongique (*Epicoccum nigrum* Link). *Lebensm. -Wiss. u. -Technol.*, 14, 18-20.
- Tressl R., Barhi D. et Engel KH., 1982. Formation of eight carbon and ten carbon components in mushrooms (*Agaricus bisporus*). *J. Agric. Food Chem.*, 30, 89-93.