

14^{èmes} Journées Internationales
Huiles Essentielles



31 AOÛT - 1, 2 SEPTEMBRE 1995

PRODUCTION ET ETUDE
DES MATIERES VEGETALES
AROMATIQUES

25 AVR. 1996

COMITE SCIENTIFIQUE

Président: Dr Louis PEYRON (Grasse)
Pr DERBESY (E.S.C.M. Marseille)
Dr FLAMENT (Firmenich - Genève)
Dr MARION (Nestec - Vevey)
M. PELLERIN (CAL - Grasse)
Dr PICKENHAGEN (U.S.A.)
Dr RICHARD (INSIA - Massy)
Pr ROUZET (U.E.R. - Pharmacie - Nantes)
Dr TOUCHE (C.E.A.M.S. - Avignon)
M. ZOLA (Adrian - Marseille)

CONSEIL D'ORGANISATION

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

SECRETARIAT:

Mme FRISON Marie-Louise
Chambre d'Agriculture
66 Bd Gassendi - B.P. 117
F. 04004 - DIGNE LES BAINS Cédex
Tél: 92.32.03.83

ANALYSE COMPARATIVE DE L'AROME DU CLITOCYBE ANISE (*Clitocybe odora*) PAR EXTRACTION AU SOLVANT ET ANALYSE DES EFFLUVES

Sophie BREHERET*, Thierry TALOU*, Sylvie RAPIOR** et Jean-Marie
BESSIERE***

* Laboratoire de Chimie Agroindustrielle, Institut National Polytechnique de Toulouse, 31077 Toulouse.

** Laboratoire de Botanique et de Mycologie, Faculté de Pharmacie, 34060 Montpellier cédex 01.

*** Laboratoire de Chimie Appliquée-Phytochimie, Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier, 34053 Montpellier cédex 01.

INTRODUCTION

La consommation des champignons sauvages, et notamment leur cueillette, connaissent actuellement un engouement, qui repose en partie sur la multitude d'odeurs que les champignons peuvent présenter. Les spécialistes de la mycologie (COUTECUISSE & DUHEM, 1994) confirmeront l'importance attribuée à la multitude de perceptions sensorielles qu'offrent les champignons, autant pour un intérêt taxonomique qu'un intérêt aromatique.

Les travaux réalisés en matière de flaveur de champignons sont peu abondants et portent principalement sur des espèces assez répandues, comme le champignon de Paris (*Agaricus bisporus*) (CRONIN & WARD, 1971 ; PYYSAALO, 1976 ; BUCHBAUER *et al.*, 1993). Ces études révèlent l'importance de la série des composés à huit carbones, et notamment l'oct-1-èn-3-ol, qui jouerait un rôle majeur dans l'arôme des champignons. Récemment d'autres auteurs s'intéressent à la fraction volatile de champignons présentant des odeurs plus particulières (AUDOUIN *et al.*, 1989 ; WOOD *et al.*, 1990 ; WOOD *et al.*, 1994).

Les listes de composés identifiés ne sont pas exhaustives et dépendent largement des techniques d'extraction utilisées (CHARPENTIER *et al.*, 1985 ; MAGA, 1981).

Parmi les champignons odorants les plus intéressants, le clitocybe anisé (*Clitocybe odora*) se caractérise par une forte odeur anisée très recherchée en agroalimentaire.

L'analyse comparative des composants volatils de différents échantillons surgelés de ce champignon a été réalisée par analyse directe des effluves au travers de concentration

cryogénique directe des volatils sur piège TENAX et par extraction au dichlorométhane. La caractérisation chimique et olfactive des concentrats a été effectuée par GC-MS et GC-Sniffing avec comme référentiel Le Champ des Odeurs (JAUBERT *et al.*, 1987).

Notre objectif dans ces travaux a été d'apporter une contribution à la connaissance des composés aromatiques, pouvant intéresser l'industrie des arômes alimentaires, sans perdre de vue que l'étude de la fraction volatile de ces champignons peut être un outil précieux pour l'aspect chémotaxonomique.

MATERIEL ET METHODES

Le clitocybe anisé a été récolté en octobre-novembre 1994, dans le massif de l'Aigoual pour les espèces de montagne. Les champignons ont été congelés avant d'être analysés.

La fraction volatile a été extraite par un solvant organique et par analyse directe des effluves :

L'extraction par un solvant organique a été réalisée au sohxlet dans le dichlorométhane pendant 12 heures. Les extraits sont ensuite analysés par GC-MS (Hewlett Packard 5890 et 5971), sur une colonne apolaire BPX5, de longueur 25 mètres et de diamètre 0,15 micromètres (SGE). Injection en mode split 1/30. L'analyse a été réalisée en programmation de température.

L'analyse directe des effluves est réalisée à l'aide d'une cellule dans laquelle est déposé le champignon à analyser (20 g). Cette cellule est connectée d'une part à un chromatographe en phase gazeuse (DELSI 30), équipé d'un injecteur purge and trap (Platine DCI-DELSI). Les composés volatils sont concentrés sur un piège en TENAX à -20°C pendant 20 mns, avec un gaz de balayage de 25 ml/mn. Les composés volatils sont ensuite désorbés thermiquement à 250°C dans la colonne (SPB-1, 60 m de longueur, 0,32 mm de diamètre, 1 µm d'épaisseur de film, SUPELCO). La pression du gaz vecteur (hélium) est de 1 bar. La programmation de température utilisée est de 40 à 220°C à 3°C/mn. La température du détecteur est 230°C. Ce chromatographe est équipé d'un système de détection olfactive (SGE) en sortie de colonne, à l'aide d'un système diviseur (30% FID-70% Sniffing).

Le cellule est connectée d'autre part à un chromatographe en phase gazeuse (Hewlett Packard 5890) couplée à un spectromètre de masse (Hewlett Packard 5971), équipé d'un injecteur concentrateur/headspace (système CHISA-SGE). Les composés volatils sont concentrés sur un piège en TENAX pendant 20 mns, avec un gaz de balayage de 25 ml/mn. Les composés volatils sont ensuite désorbés en tête de colonne, refroidie à l'azote liquide

(BP1, 50 m de longueur, 0,22 mm de diamètre, 1 µm d'épaisseur de film, SGE). La pression du gaz vecteur (hélium) est de 1,5 bar. La programmation de température utilisée est de 40 à 220°C à 3°C/mn. La température du détecteur de masse est 250°C.

Pour les analyses GC-MS, concernant les deux types d'extraction, l'interprétation et l'identification des spectres de fragmentation sont basées sur la banque de données NBS (Hewlett Packard).

RESULTATS ET DISCUSSION

Analyse de l'arôme du clitocybe anisé par extraction au dichlorométhane :

Le chromatogramme présenté ci-après est le profil obtenu par GC-MS, et les pourcentages relatifs indiqués pour chaque composé sont basés sur les aires de pics obtenus en analyses GC-MS.

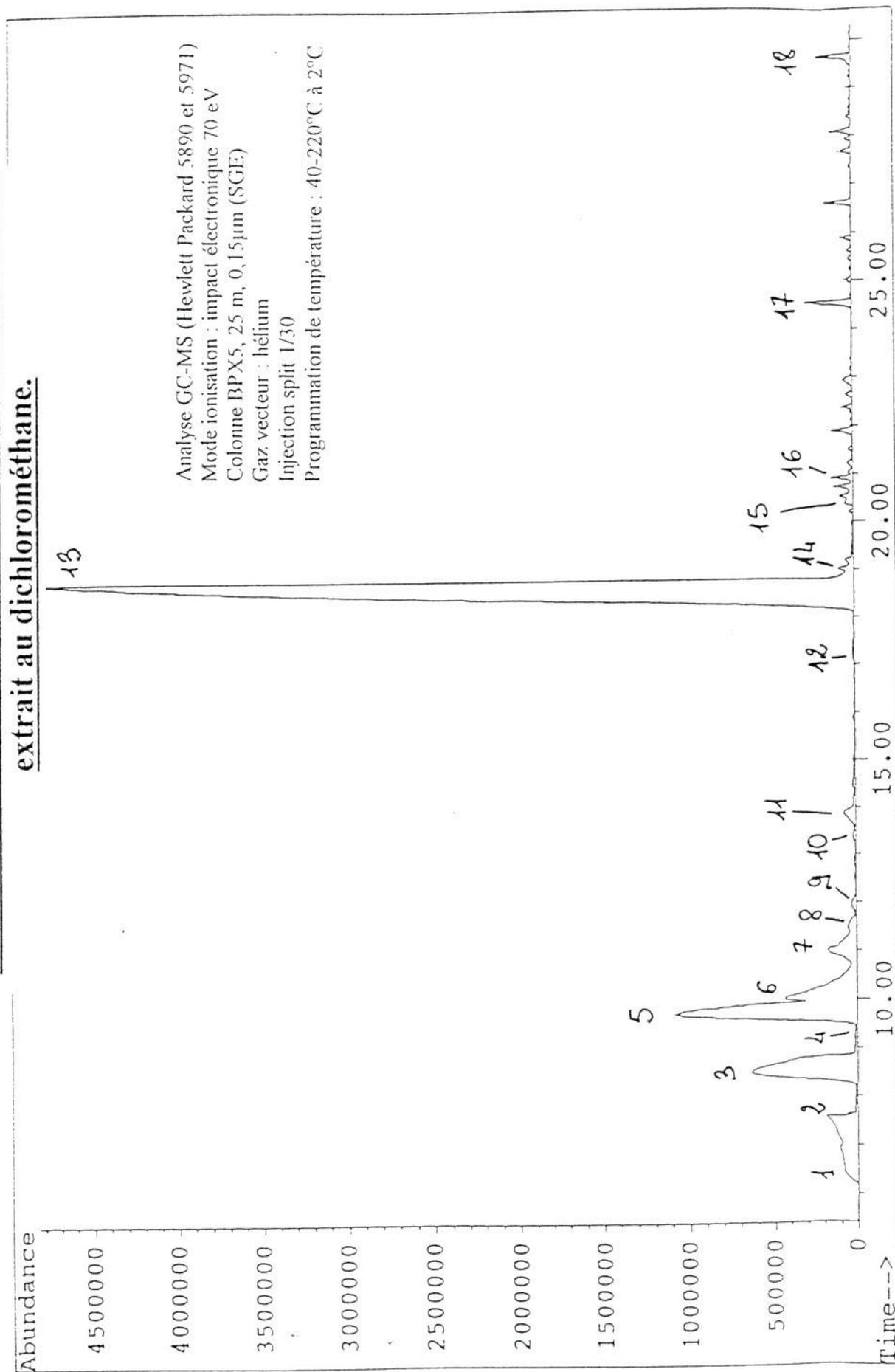
La composition de l'extrait met en évidence la présence d'un composé largement majoritaire : le 4-méthoxybenzaldéhyde à 60%, qui est aussi appelé le para-anisaldéhyde. Ce composé est responsable de l'odeur anisée de ce champignon. Les autres composés majoritaires sont l'octan-3-one, le benzaldéhyde, l'oct-1-èn-3-ol, et le phényléthanal. Quelques composés odorants intéressants, présents en très faible quantité, sont également à remarquer : le limonène, l'oxyde de linalyle, le linalol, le (*E,E*)-déca-2,4-diène.

Analyse de l'arôme du clitocybe anisé par analyse directe des effluves :

Le chromatogramme présenté ci-après est le profil obtenu par GC-FID, accompagné des descripteurs olfactifs obtenu par sniffing, et les pourcentages relatifs indiqués pour chaque composé sont basés sur les aires de pics obtenus en analyses GC-FID.

Les composés majoritaires présents dans l'arôme du clitocybe anisé, par analyse directe des effluves, sont l'hexanal, l'oct-1-èn-3-ol, l'hexanoate d'éthyle, le 3-méthylbutanoate d'éthyle et le benzaldéhyde. D'autres composés odorants sont présents en faibles quantités : l' α -pinène et le limonène. Si l'analyse GC-MS ne permet pas d'identifier un composé ayant une odeur anisée, la détection olfactive par sniffing révèle la présence d'un tel composé à l'état de traces, indétectables par analyse GC-MS.

**Profil chromatographique de l'arôme de *Clitocybe odora*
extrait au dichlorométhane.**



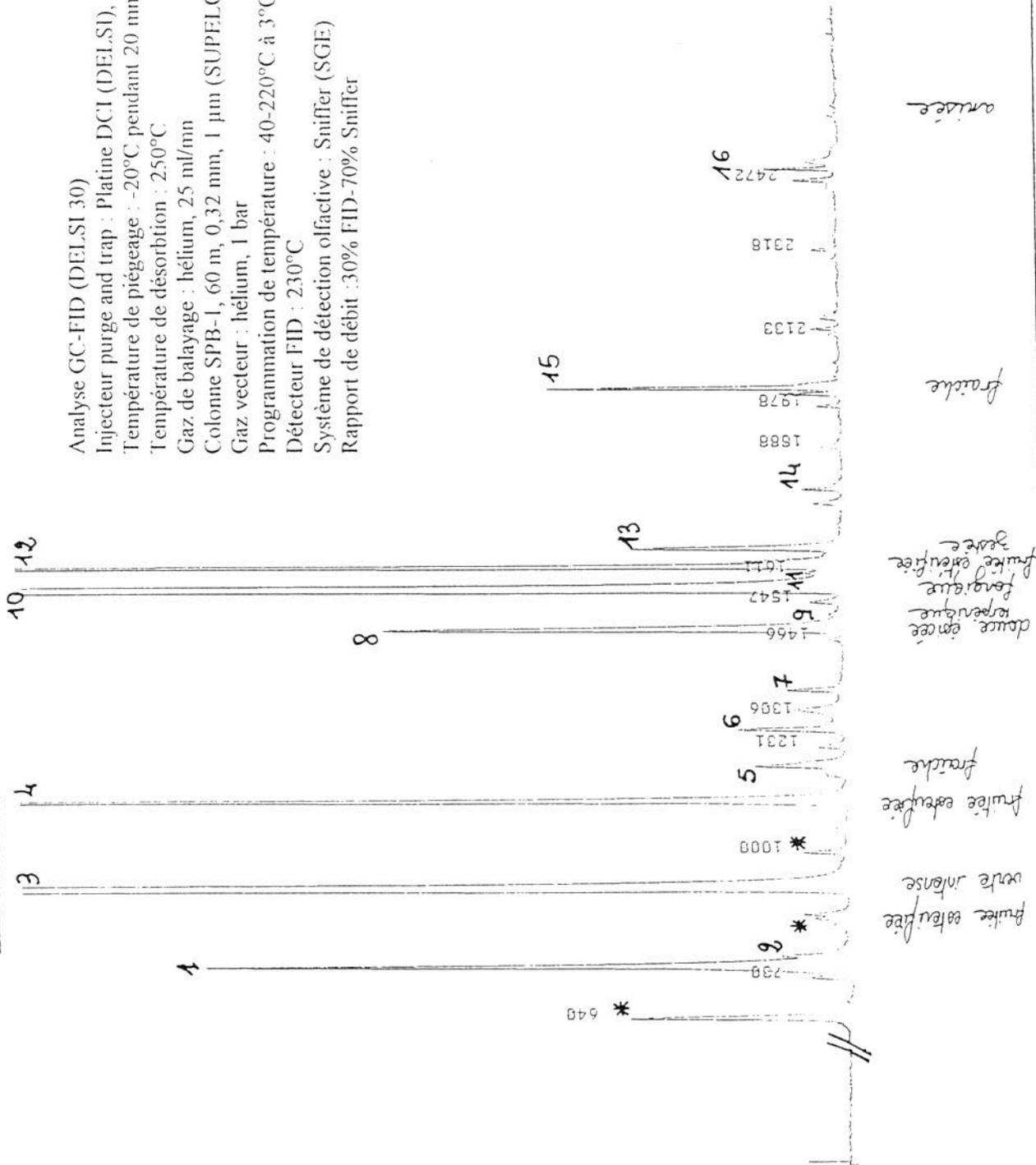
**Liste des composés volatils de l'arôme de
Clytocybe odora extrait au dichlorométhane.**

| | | |
|------|-------------------------------|--------|
| 1 / | 2(5H) furanone | 3% |
| 2 / | acide 3-méthylbutyrique | 3% |
| 3 / | benzaldéhyde | 11% |
| 4 / | oct-1-èn-3-one | traces |
| 5 / | octan-3-one | 14% |
| 6 / | oct-1-èn-3-ol | 3% |
| 7 / | phényléthanal | 2% |
| 8 / | limonène | 0,5% |
| 9 / | (<i>E</i>)-oct-1-èn-2-al | 0,1% |
| 10 / | oxyde de linalyle | 0,2% |
| 11 / | linalol | 0,5% |
| 12 / | acide? | 0,1% |
| 13 / | 4-méthoxybenzaldéhyde | 60% |
| 14 / | acide phénylacétique | 0,1% |
| 15 / | alcool 4-méthoxybenzylique | 0,1% |
| 16 / | (<i>E,E</i>)-déca-2,4-diène | 0,1% |
| 17 / | ? | 0,4% |
| 18 / | nérolidol | 0,2% |

(* pourcentages relatifs basés sur les aires des pics obtenus en analyses GC/MS.)

Profil chromatographique de l'arôme de *Clitocybe odora* par analyse directe des effluves.

Analyse GC-FID (DELTA 30)
 Injecteur purge and trap : Platine DCI (DELSI), TENAX GC
 Température de piégeage : -20°C pendant 20 mn
 Température de désorption : 250°C
 Gaz de balayage : hélium, 25 ml/min
 Colonne SPB-1, 60 m, 0,32 mm, 1 µm (SUPELCO)
 Gaz vecteur : hélium, 1 bar
 Programmation de température : 40-220°C à 3°C/min
 Détecteur FID : 230°C
 Système de détection olfactive : Sniffer (SGE)
 Rapport de débit : 30% FID-70% Sniffer



Liste des composés volatils de l'arôme de
Clitocybe odora par analyse directe des effluves.

| | | |
|------|-------------------------------|--------|
| 1 / | 3-méthylbutan-1-ol | 6,5% |
| 2 / | hexan-2-one | 0,3% |
| 3 / | hexan-1-al | 33,5% |
| 4 / | 3-méthylbutanoate d'éthyle | 8% |
| 5 / | acétate de 3-méthylbutan-1-ol | 0,8% |
| 6 / | ester ? | 0,8% |
| 7 / | hexanoate de méthyle | 0,4% |
| 8 / | benzaldéhyde | 5% |
| 9 / | α -pinène | traces |
| 10 / | oct-1-èn-3-ol | 27% |
| 11 / | octan-3-one | traces |
| 12 / | hexanoate d'éthyle | 8% |
| 13 / | ? | 2% |
| 14 / | limonène | traces |
| 15 / | ? | 2% |
| 16 / | ? | traces |

(Pourcentages relatifs basés sur les aires de pics obtenus en analyse GC/FID.)

CONCLUSION

Le composé responsable de l'odeur anisée de ce champignon semble être le para-anisaldéhyde, présent à 60% dans l'arôme, par extraction au dichlorométhane. Par l'analyse directe des effluves, ce composé présent à l'état de traces n'est pas clairement identifié.

Les compositions des extraits solvant et des piégeages sur TENAX diffèrent fortement. Chacune des deux analyses met en évidence la présence de composés odorants intéressants, participant à l'odeur générale que dégage le clitocybe anisé. Ces deux techniques donnent, en effet, chacune son image de l'arôme. L'analyse directe des effluves permet de piéger les composés les plus volatils, présents à l'état gazeux dans l'atmosphère proche du champignon, alors que l'extrait au solvant organique permet de récupérer les composés les plus légers présents dans le champignon.

La complémentarité de ces deux techniques permettent de cerner de façon plus précise l'arôme du champignon, autant d'un point de vue aromatique : détermination de la molécule responsable de l'odeur anisée, que d'un point de vue chémotaxonomique : présence de molécules odorantes originales, comme le linalol, le limonène ou l' α -pinène.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AUDOUIN P., VIDAL J.P., RICHARD H., 1989. Composés volatils de l'arôme de quelques champignons sauvages comestibles. *Sci. Aliments*, 9, 1, 185-193.

BUCHBAUER G., JIROVETZ L., WASICKY M., NIKIFOROV A., 1993. The aroma of edible mushrooms. Headspace analysis using GC/FID and GC/FTIR/MS. *Z. Lebensm. unters. Forsch.*, 197, 429-433.

CHARPENTIER B.A., SEVENANTS M.R., SANDERS R.A., 1986. Comparison of the effect of extraction methods on the flavor volatile composition of shiitake mushrooms (*Lentinus edodes*) via GC/MS and GC/FTIR.

COURTECUISSÉ R., DUHEM B., 1994. Guide des champignons de France et d'Europe. 476p. Delachaux et Niestlé S.A. Lausanne (SWITZERLAND). Paris.

CRONIN D.A., WARD M.K., 1977. The characterization of some mushroom volatiles. *J. Sci. Food Agric.*, 22, 477-479.

JAUBERT J.N., GORDON G., DORE J.C., 1987. Une organisation du champ des odeurs. *Parfums Cosmétiques Arômes*, 77, 53-56.

MAGA J.A., 1981. Mushroom flavor. *J. Agric. Food Chem.*, 29, 1-4.

PYYSALO M., 1976. Identification of volatiles compounds in seven edible mushrooms. *Acta Chem. Scand.*, B30, 235-244.

WOOD W.F., WATSON R.L., LARGENT D.L., 1990. The odor of *Agaricus augustus*. *Mycologia*, 82, 2, 276-278.

WOOD W.F., BRANDES M.L., WATSON R.L., JONES R.L., LARGENT D.L., 1994. trans-2-nonenal, the cucumber odor of mushrooms. *Mycologia*, 86, 4, 561-563.