

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

LE CONCEPT DE POSTER CD-ROM : APPLICATION A LA PRESENTATION D'UNE BIBLIOTHEQUE INTERACTIVE SUR LES AROMES DE CHAMPIGNONS

Thierry TALOU*, Sophie BREHERET*, 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 ; PYYSALO, 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).

Dans le cadre d'une étude chémotaxonomique, une classification basée sur les notes aromatiques, telles que décrites dans Le Champ des Odeurs (JAUBERT *et al.*, 1987), a été réalisée sur 13 champignons supérieurs (*Clitocybe odora*, *Lentinus cochleatus*, *Hygrophorus agathosmus*, *Amanita citrina*, *Hebeloma sinapizans*, *Amanita phalloïdes*, *Cantharellus*

cibarius, *Cantharellus lutescens*, *Agaricus bisporus*, *Tricholoma caligatum*, *Hebeloma radicosum*, *Pholiota apicrea* et *Marasmius alliaceus*) correspondants à 7 notes odorantes (anisée, verte, florale, fruitée, fongique, douce épicée et alliagée). Les analyses des composés volatils ont été réalisées par GC-MS et GC-Sniffing avec comme référentiel Le Champ des Odeurs après extraction par solvant organique et/ou par concentration cryogénique directe des volatils sur piège TENAX.

Les résultats des analyses chimiques et sensorielles complétées par une description taxonomique et une photographie du champignon étudié sont présentés sous la forme d'une bibliothèque interactive mémorisée sur CD-ROM, introduisant comme support de vulgarisation scientifique le concept de Poster CD-ROM.

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

NOM LATIN	DESCRIPTEUR OLFACTIF
<i>Clitocybe odora</i>	ANISEE
<i>Lentinus cochleatus</i>	
<i>Hygrophorus agathosmus</i>	
<i>Amanita citrina</i>	VERTE
<i>Hebeloma sinapizans</i>	
<i>Amanita phalloïdes</i>	FLORALE
<i>Cantharellus cibarius</i>	FRUITEE
<i>Cantharellus lutescens</i>	
<i>Agaricus bisporus</i>	FONGIQUE
<i>Tricholoma caligatum</i>	DOUCE EPICEE
<i>Hebeloma radicosum</i>	
<i>Pholiota apicrea</i>	
<i>Marasmius alliaceus</i>	ALLIACEE

Treize champignons, dont l'odeur est décrite par COURTECUISSÉ et DUHEM (1994), sont associés à un descripteur olfactif, d'après Le Champ des Odeurs (JAUBERT *et al.*, 1987).

Ces 13 espèces de champignons étudiées ont été récoltées en octobre-novembre 1994, dans le massif de l'Aigoual pour les espèces de montagne, et aux alentours de Montpellier pour les espèces de plaine. 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 Soxhlet dans le dichlorométhane pendant 12 heures. Pour chaque espèce une quantité comprise entre 10 et 350 grammes, selon la disponibilité, est mise directement dans une quantité de dichlorométhane, comprise entre 15 et 250 millilitres, de façon à ce que le champignon, en morceaux, soit recouvert. 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. La quantité injectée dépend de la dilution de l'échantillon (injection en mode split 1/30). Toutes les analyses ont été réalisées en programmation de température. Les chromatogrammes présentés dans la bibliothèque, pour la partie extraction au dichlorométhane, sont les profils obtenus par analyse GC-MS.

L'analyse directe des effluves est réalisée à l'aide d'une cellule dans laquelle est déposé le champignon, découpé en morceaux, à analyser (de 20 à 50 grammes selon la disponibilité). 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. Les chromatogrammes présentés dans la bibliothèque, pour la partie analyse directe des effluves, sont les profils obtenus par analyse GC-FID.

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

La présentation et la description de chaque champignon ainsi que les résultats des différentes analyses sont présentés sous la forme d'une bibliothèque interactive mémorisée sur CD-ROM. Pour exemple, le cheminement *informatique* pour accéder aux informations concernant le champignon *Marasmius alliaceus* est présenté ci-après.

L'extraction au dichlorométhane de l'arôme de *Clitocybe odora* révèle que le para-anisaldéhyde est responsable de la note anisée. Ce composé n'est pas retrouvé dans les arômes de *Lentinus cochleatus* et de *Hygrophorus agathosmus*, par les deux techniques d'extraction, bien que ces deux champignons présentent une odeur anisée.

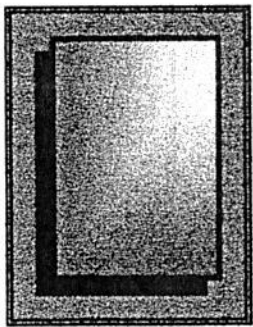
La note odorante verte est probablement due à la présence d'heptan-2-al, dans l'arôme de *Amanita citrina* extrait au dichlorométhane, et à la présence d'hexanal, dans celui de *Hebeloma sinapizans* par analyse directe des effluves.

Cette technique d'analyse des effluves ne met pas en évidence la présence d'un composé responsable de l'odeur florale, pour le champignon *Amanita phalloïdes*. Par contre, les arômes de *Cantharellus cibarius* et *Cantharellus lutescens* extrait par cette même technique contiennent le bicyclo[4,1,0]heptan-2-one, responsable de la note fruitée

Confirmant la littérature, la note fongique de l'arôme de *Agaricus bisporus* extrait au dichlorométhane, est essentiellement due au oct-1-èn-3-ol

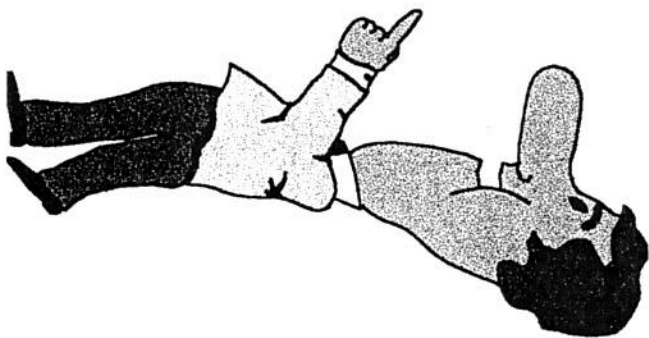
Les deux méthodes d'extraction mettent en évidence la présence de benzaldéhyde dans l'arôme de *Hebeloma radicosum*, responsable de la note douce épicée. Bien que les champignons *Tricholoma caligatum* et *Pholiota apicrea* présentent la même note odorante, seuls des composés à odeur éthérée ou florale sont présents, comme l'hexan-2-one par extraction au solvant organique de l'arôme de *Tricholoma caligatum* et comme le 2-phényléthanol par analyse directe des effluves de l'arôme de *Pholiota apicrea*.

Des odeurs de champignons ...



" Appuyez,

et vous en saurez plus!"



*“Choisissez une note
aromatique...”*

Anisée

Verte

Florale

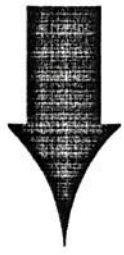
Fruitée

**Douce
épicée**

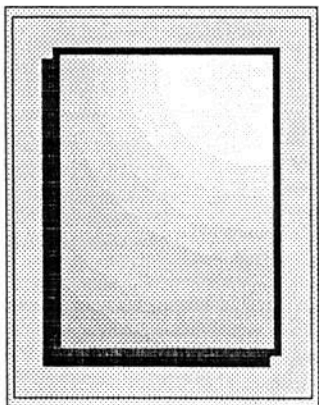
Fongique

Alliacée

Champignons à odeur Alliacee



Marasmius alliaceus



Marasmius alliaceus* (Jacq.:Fr.) Fr.*16

NOM VULGAIRE : marasme à odeur d'ail.

ECOLOGIE : petite espèce commune sur les brindilles des bois feuillus des régions montagneuses.

CHAPEAU : 1 à 4 cm, étalé légèrement mamelonné ou difforme. couleur : crème sale à brun argile.

PIED : grêle, fibreux, brun noirâtre, il s'éclaircit vers le sommet et s'achève dans le sol par une pseudo racine poilue.

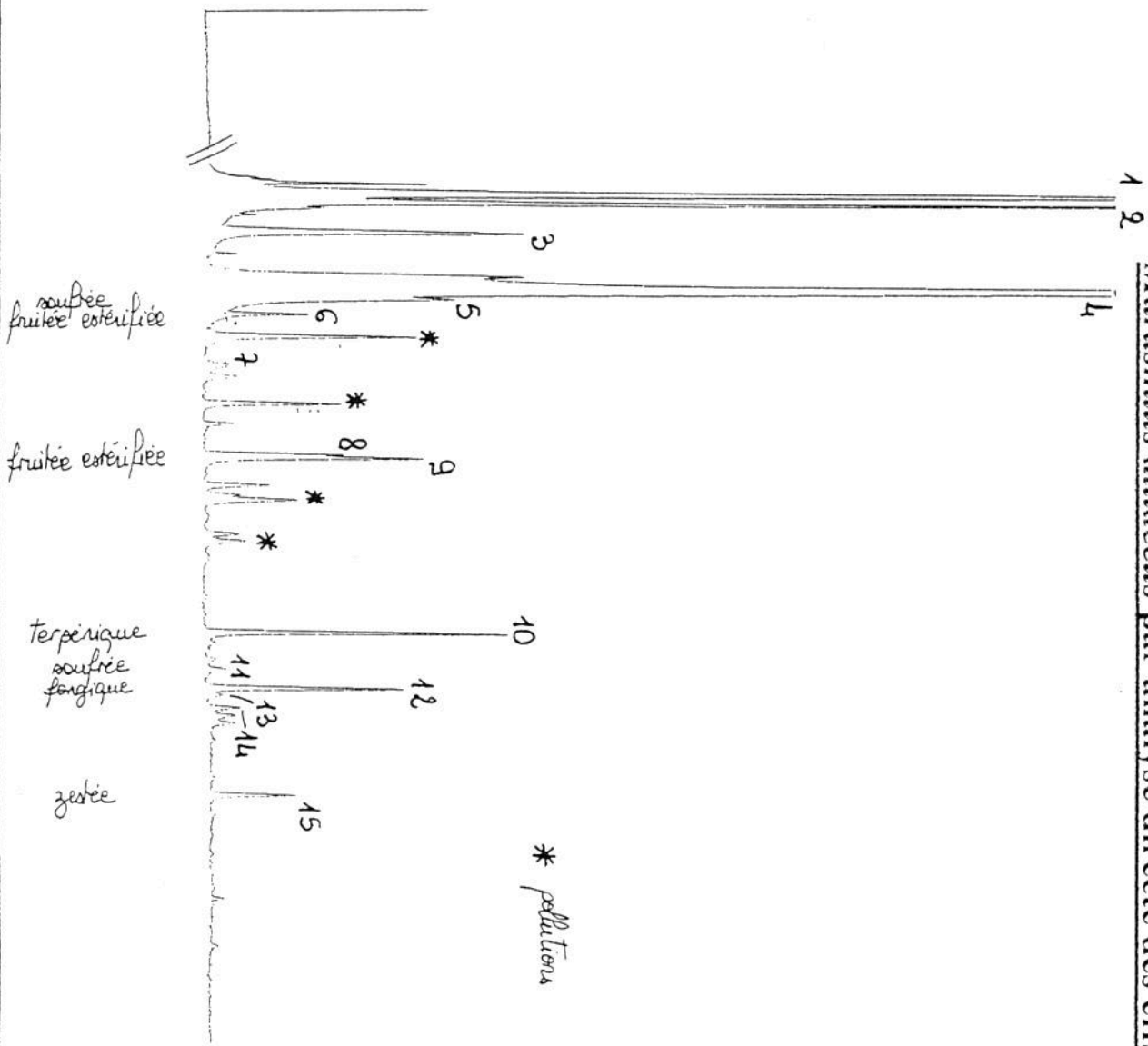
SPORES : 10x7 µm, en forme de losange. Présence de cystides de forme variable.

CHAIR : brunâtre.

ODEUR ET SAVEUR : odeur et saveur d'ail.

REMARQUE : espèce comestible utilisée séchée comme condiment.

**Profil chromatographique de l'arôme de
Marasmius alliaceus par analyse directe des effluves.**

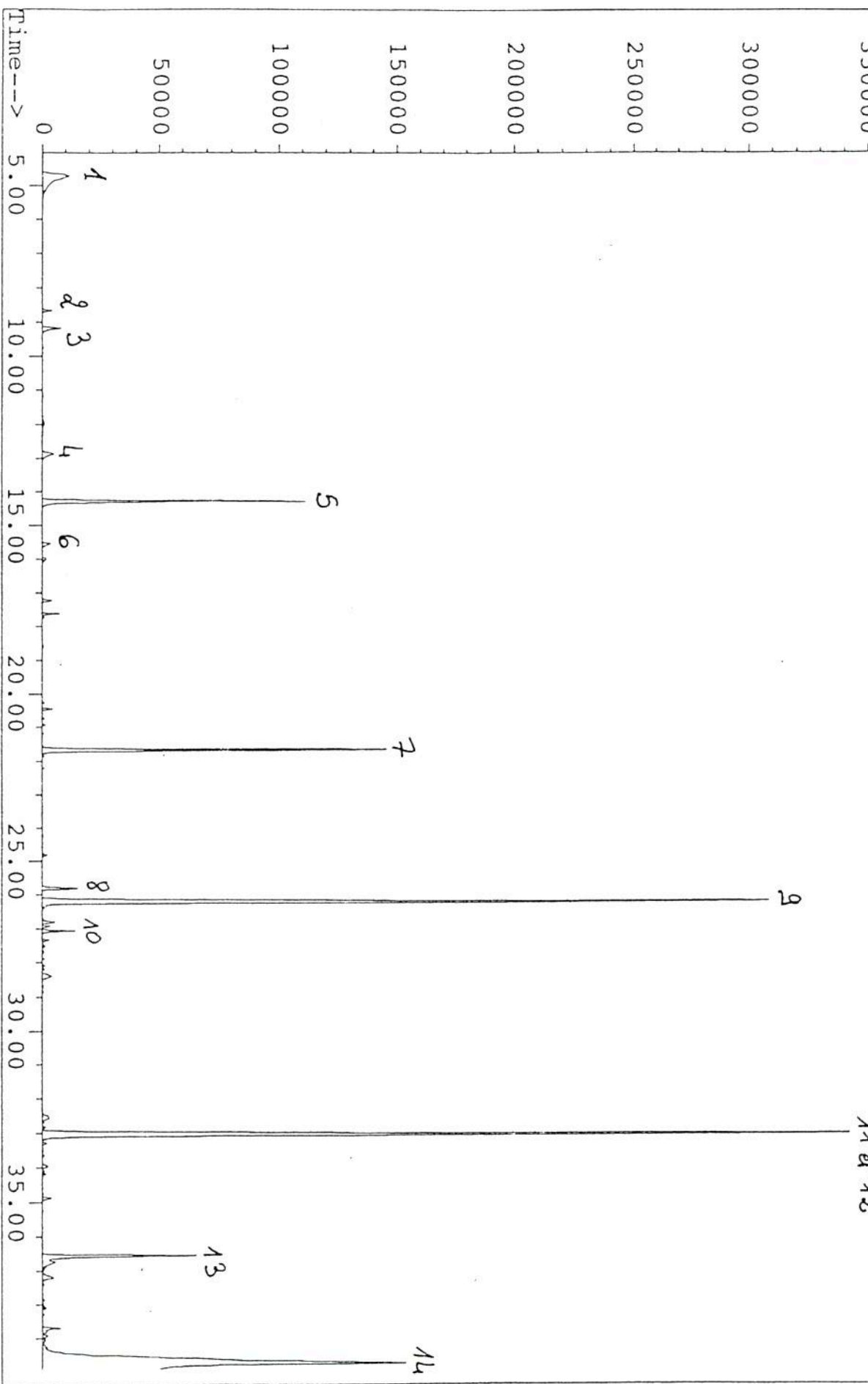


Liste des composés volatils de l'arôme de
Marasmius alliaceus
par analyse directe des effluves.

1 /	3-méthylbutan-1-al	20%
2 /	2-méthylbutan-1-al	7,5%
3 /	pentan-3-one	3,3%
4 /	4-méthylpentan-2-one	47%
5 /	disulfure de méthyle	3%
6 /	butanoate d'éthyle	0,5%
7 /	hexan-1-al	0,2%
8 /	2-méthylbutanoate d'éthyle	0,5%
9 /	3-méthylbutanoate d'éthyle	2%
10 /	α -pinène	2%
11 /	trisulfure de méthyle	0,1%
12 /	oct-1-èn-3-ol	1,5%
13 /	octan-3-one	traces
14 /	β -pinène	0,2%
15 /	limonène	0,6%

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

Abundance



Profil chromatographique de l'arôme de
Marasmius alliaceus extrait au dichlorométhane.

11 et 12

Liste des composés volatils de l'arôme de
Marasmius alliaceus
extrait au dichlorométhane.

1 /	disulfure de méthyle	1%
2 /	benzaldéhyde	0,3%
3 /	trisulfure de méthyle	0,6%
4 /	1,2,4-trithiolane	0,4%
5 /	CH ₃ SSCH ₂ SCH ₃	6%
6 /	C ₃ H ₈ S ₃	0,3%
7 /	C ₃ S ₄ H ₈	9%
8 /	?	0,9%
9 /	(CH ₃ S-CH ₂ S) ₂	21%
10 /	pentadecane	0,7%
11 /	C ₄ S ₅ H ₁₀	24%
12 /	?	4%
13 /	?	0,3%
14 /	acide palmitique	27,2%

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

La note soufrée du champignon *Marasmius alliaceus* est expliquée par la présence de nombreux composés soufrés dans l'extrait solvant et par analyse directe des effluves.

CONCLUSION

Les compositions des extraits solvant et des piégeages sur TENAX diffèrent fortement. Chacune des deux extractions met en évidence des composés odorants intéressants, responsables de la note olfactive générale des champignons. La complémentarité de ces deux techniques permet de mieux définir l'image de l'arôme du champignon sans perdre de vue les intérêts aromatique et chémotaxonomique.

La présentation originale de ces travaux introduit un nouveau support de vulgarisation scientifique : le poster CD-ROM, qui permet de visualiser de nombreux résultats de manière attractive et simplifiée.

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.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient P. BRIMBILLA, ainsi que la société FEE pour la réalisation de la partie technique et informatique du CD-ROM.