

SELECTION DE SOUCHES FONGIQUES DE LA FLORE DE SURFACE DE SAUCISSONS SECS ET ETUDE DE LEUR CAPACITE CATALYTIQUE.

J.B. GROS¹, M.F. ROQUEBERT², J.L. BERDAGUE³, C. LARROCHE¹, P. FONTANILLE¹, J. SIRAMI⁴

¹Laboratoire de génie chimique et biochimique, Université B Pascal, CUST, BP 206, 63174 Aubière cedex

²MNHN, Laboratoire de mycologie, 12 rue Buffon, 75005 Paris

³INRA Clermont-Ferrand-Theix, Station de Recherche sur la Viande, Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle

⁴Adiv, 2 rue Chappe, 63039 Clermont-Ferrand cedex 2

Introduction

Les qualités aromatiques des produits de salaison, et en particulier des saucissons secs, constituent un des éléments importants du choix effectué par les consommateurs. L'arôme est en grande partie d'origine microbienne et il est produit par la flore de surface et par la flore interne du saucisson. La première semble jouer un rôle important même si la part de chacune des flores reste mal connue.

Le travail présenté a porté sur l'étude des souches fongiques de la flore de surface des saucissons secs.

Matériels et méthode

Méthode

Le travail s'est déroulé en six étapes visant à mettre en évidence la capacité catalytique spécifique de la flore fongique de surface :

- 1 - collection de saucissons d'origine artisanale issus de différentes régions de France. Sélection d'un lot de référence, sur le critère de la qualité et de l'intensité de leur arôme.
- 2 - isolement et identification des moisissures présentes à la surface de ces saucissons.
- 3 - fabrication de saucissons à partir de chacune des souches pures.
- 4 - analyse de la fraction volatile produite par la flore de surface de saucissons du commerce sélectionnés.
- 5 - analyse de la fraction volatile produite par la flore de surface des saucissons ensemencés par chacune des souches pures.
- 6 - culture en réacteur des souches pures. Etude des formes et des conditions de culture ; étude de leur capacité à produire des constituants de la fraction volatile à partir de précurseurs sélectionnés.

Matériels utilisés

Les milieux de culture utilisés pour l'isolement des moisissures ont été les milieux MA (Malt-Agar 2%), PDA (Potato Dextrose Agar) et DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol agar). La température d'incubation était de 25°C.

La formulation des saucissons "modèle" était la suivante :

- viande: épaule de porc 4D : 80% massique, bardière : 20% massique ;
- assaisonnements : sel : 3% (en masse), saccharose : 0,6%, salpêtre : 400 ppm, poivre noir moulu : 0,1% ;
- flore interne : ferment Lyoflore 2M (Texel)
- autres caractéristiques : hachage des morceaux de viande à 6 mm, pétrissage pendant 2,5 min., boyau naturel.

Les conditions de fabrication sont restées classiques :

- ensemencement en moisissures de surface par trempage individuel durant 2 min. environ. Un témoin non ensemencé a été réalisé. Le développement des moisissures contaminantes a été inhibé par trempage du témoin durant 2 min. environ dans une solution de pimarinine.
- égouttage 12 h à 12°C dans des cellules d'étuvage/séchage préalablement désinfectées.
- étuvage à 24°C maximum durant 26 heures et fleurissement (développement des moisissures) entre 19 et 15°C durant 3 jours.
- séchage dans la même cellule pendant 21 jours à 12°C entre 75% et 85% HR (Figure 1).



Figure 1 : aspect des saucissons en fin d'étuvage

Après extraction de la fraction volatile, l'injection des composés volatils concentrés sur le piège a été réalisée par désorption thermique à 220°C dans un chromatographe Hewlett-Packard 5890 series A couplé à un spectromètre de masse Hewlett-Packard 5971A. L'identification des composés a été conduite par comparaison des spectres expérimentaux avec ceux obtenus dans les banques NIST/EPA/MSDC (1996) et NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library version 1.5 (1996), ainsi que par comparaison de leurs indices de rétention relatifs (indices de Kovats) par rapport à la banque de données réalisée par Kondjoyan et Berdagué (Inra, 1996).

Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel STATISTICA (1997).

Résultats

La sélection de saucissons artisanaux "particulièrement" aromatiques et l'identification de leur flore a conduit à mettre en collection (Laboratoire de Cryptogamie, MNHN) un ensemble de 59 souches de moisissures, essentiellement des *Penicillium*. Le tableau 1 récapitule les principales espèces isolées et identifiées.

Espèces	Nombre de souches
Penicillium	
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	17
<i>Penicillium jensenii</i>	7
<i>Penicillium expansum</i>	4
<i>Penicillium verrucosum</i>	4
<i>Penicillium brevicompactum</i>	3
<i>Penicillium crustosum</i>	2
<i>Penicillium puberulum</i>	2
<i>Penicillium variabile</i>	2
<i>Penicillium camembertii</i>	1
<i>Penicillium chrysogenum</i>	1
<i>Penicillium decumbens</i>	1
<i>Penicillium implicatum</i>	1
<i>Penicillium roquefortii</i>	1
<i>Penicillium simplicissimum</i>	1

<i>Penicillium viridicatum</i>	
Mucorales	8
<i>Mucor racemosus</i>	2
<i>Mucor plumbeus</i>	2
<i>Rhizopus stolonifer</i>	
Divers	4
<i>Cladosporium phaeospermum</i>	1
<i>Aspergillus claviforme</i>	1
<i>Aspergillus niger</i>	1
<i>Epicoccum purpurascens</i>	

Tableau 1 : Récapitulation des principales espèces de moisissures présentes dans les saucissons sélectionnés.

L'analyse sensorielle et l'analyse par GC-MS de la fraction volatile produite sur des saucissons par cette flore de surface ont confirmé le rôle actif qu'elle joue. Les descripteurs visuels (implantation, homogénéité, couleurs) ont tous été influencés de façon hautement significative par la souche sélectionnée pour ensemercer la surface. Parmi les descripteurs olfactifs, les variables "odeur de saucisson", "odeur de cave", "odeur de champignon", "odeur d'humus" ont été aussi influencées de façon hautement significative par les ensemencements de surface. Les composés de la fraction volatile sont semblables à ceux communément identifiés à l'intérieur des saucissons et l'on retrouve des alcools, des aldéhydes, des cétones, des alcanes, des composés aromatiques, des terpènes et des sesquiterpènes...., mais à des concentrations très différentes. Les profils chromatographiques des saucissons ensemencés par des souches pures sélectionnées sont ainsi riches en composés benzéniques et en composés à 8 atomes de carbone, et pauvres en substances classiquement trouvées dans les mêlées de saucissons.

Le comportement sur substrat solide des souches sélectionnées a été précisé et on sait actuellement assurer leur propagation. Elles ont pu être cultivées de façon reproductible en réacteur, en milieu liquide, dans des conditions très éloignées de leur habitat naturel. Elles gardent leur aptitude à la biosynthèse et à la biotransformation. Elles se sont révélées capables de synthétiser des métabolites aussi divers que des cétones, des alcools (à partir d'acides gras), des aldéhydes, des esters, des acides gras, des alcanes, des composés benzéniques et aussi des terpénoïdes.

Conclusion

Le travail sur les souches pures en réacteur confirme donc les potentialités aromatiques décelées lors des analyses menées sur les saucissons. L'étude n'a pas mis en évidence de molécule spécifique générée par la flore de surface, par rapport à la flore interne, mais elle a montré le rôle non négligeable du 3-octanol, de la 6-méthyl-3-heptanone et d'un isomère probable du 1-octène-3-ol, dans la perception de la qualité et de l'intensité de l'arôme de saucisson. Il semble donc qu'il serait tout à fait intéressant de prolonger cette étude par la sélection et l'étude des souches capables de produire des C₈ et par la recherche des conditions de surproduction.