

# Russules et réactions sulfoaldéhydiques

Marcel Lecomte

L'auteur se propose de réaliser une synthèse (incomplète, certes...) d'un sujet qui demande à être maîtrisé, ou en tout cas bien connu, de tous les mycologues passionnés par l'étude des russules. Les réactions aldéhydiques constituent, au sein de ce genre, un outil incontournable de détermination, que Marcel Bon avait posé quasi comme point de départ dans ses clés du genre *Russula* (1988, p.3).

## Introduction

Lindt, lichénologue passionné, utilisait déjà la sulfovanilline pour déterminer les lichens, en 1885 ; il a ouvert ainsi la route aux agaricologues. Le test aux sulfoaldéhydes (SA) a été initié par Reich et Mikosch (1890) pour mettre en évidence les substances albumineuses. C'est en 1907, qu'Arnould et Goris<sup>1</sup> emploient pour la première fois la sulfovanilline chez les Russules et les Lactaires. Ensuite, R. Maire<sup>2</sup>, nous informe des essais que le même Arnould lui a communiqués.

Voici l'extrait, p. 102 :

« Il existe certainement d'autres réactifs chimiques [que le réactif sulfoformilique et le réactif sulfovanillique] qui pourront rendre service aux systématiseurs. C'est ainsi que beaucoup d'aldéhydes, considérés comme réactifs des phénols et qui avaient déjà été employés par Reich, concurremment avec la vanilline comme réactifs des albuminoïdes, peuvent être employés à l'étude des Russules. Tels sont les aldéhydes benzoïque, salicylique, cinnamique, etc. M. Arnould nous a fort aimablement fait part des essais qu'il a effectués avec ces différents réactifs, essais couronnés de succès. Il a obtenu, par exemple, avec l'aldéhyde benzoïque, une coloration noire parallèle à la coloration bleue obtenue avec la vanilline. Mais ces réactifs sont plus difficiles à employer que les réactifs sulfoformilique et sulfovanillique, de sorte qu'il convient de s'en tenir dans la pratique à ces derniers ».

Formules préconisées par Arnould & Goris

**Sulfoformol** : solution aqueuse de formaldéhyde à 40 % + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 70 %, à préparer extemporanément.

**Sulfovanilline** : vanilline (0,5 g) + 4 cc d' H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 70 % + 2 cc d'H<sub>2</sub>O, à préparer extemporanément.

Selon Boidin (1951)

**Sulfobenzaldéhyde** : 1 goutte d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 70 % + 1 g. de benzaldéhyde.

Schaefer (1952) introduit l'usage de la **chlorovanilline** (vanilline (0,5 g) + 4 cc d' HCl pur + 2 cc d'H<sub>2</sub>O ; nous ne possédons pas de renseignements sur ce sujet.

Sandor (1959) utilise le **sulfo- $\alpha$ -naptaldéhyde**, qui semble être tombé en désuétude assez vite.

## Définition et propriétés

La combinaison d'un acide fort (acide sulfurique à 50 ou 80 %) avec un aldéhyde<sup>3</sup> donne un mélange « réactif » dont le principe est toujours le même : il se combine avec les corps huileux et les composés phénoliques présents dans les laticifères et les pilécystides de certaines Russulales, et les cystides de certains Polypores, qui apparaissent alors dans une couleur variant du gris au noir, en passant par le brun et le bleu violacé.

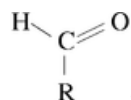
Cette propriété va être utilisée, au niveau des dermatocystides, dans les cas suivants :

- Mise en évidence : on peut ainsi vérifier s'il existe des dermatocystides épicuticulaires, et vérifier la présence de dermatocystides non incrustées.
- Vérifier leur densité : rares ou nombreuses.
- Vérifier leur morphologie et autres caractères : dimensions, particularités.
- Vérifier le niveau de réactivité : il sera nul, faible ou intense sur du matériel frais ; il variera souvent selon le réactif sulfoaldéhydique choisi ; nous considérons que les résultats obtenus sur des exsiccata sont trop aléatoires pour être pris en compte. Il en sera de même pour les cystides hyméniales.

<sup>1</sup> Bulletin Société Mycologique de France (BSMF), 1907 : 174-178

<sup>2</sup> Les bases de la classification dans le genre *Russula* : BSMF 1910 : 49-125

<sup>3</sup> Un **aldéhyde** est un composé organique faisant partie de la famille des composés carbonyles, dont un des atomes de carbone **primaire** (relié au plus à 1 atome de carbone) de la chaîne carbonée porte un groupement carbonyle. Un aldéhyde contient donc la séquence :



où **R** représente une chaîne carbonée. L'aldéhyde le plus simple est le formaldéhyde (ou méthanal), aussi appelé formol (CH<sub>2</sub>O) lorsqu'il est en solution aqueuse.

Un aldéhyde dérive formellement d'un alcool primaire (oxydation) dont le groupement hydroxyde -OH est en bout de chaîne et se forme suite à l'enlèvement de deux atomes H d'où le nom « alcool **déshydrogéné** » ou aldéhyde.

Il faut considérer que ces réactifs, essentiellement microchimiques, sont de nature très spécialisée, vu leur faible champ d'application dans le monde mycologique.

Certaines réactions macrochimiques colorées sont caractéristiques sur la chair et la cuticule de plusieurs espèces.

Jean Favre-Bonvin, Katia Gluchoff-Fiasson et Jacques Bernillon, des Français<sup>4</sup>, ont mis en évidence le composé (ou plutôt vraisemblablement, un des composés majeurs) susceptible d'être à l'origine de la coloration observée : Le stéaryl-vélutinal est un sesquiterpénoïde<sup>5</sup> naturel isolé de *Lactarius velutinus* Bert. ; il est très instable et est responsable de la réaction bleu foncé du champignon au mélange sulfovanillique.

D'autres auteurs (Camazine & Lupo, 1984 – Hansson & Sterner, 1991 – Verbeken & al., 2006) ont développé ce sujet au niveau de l'ensemble des Russulales, en mettant en évidence d'autres sesquiterpénoïdes, tels que le lactarane, l'isovelleral.

### Les aldéhydes que nous allons utiliser

Le **formaldéhyde** (CH<sub>2</sub>O), ou méthanal, ou aldéhyde formique, ou formol, est un liquide incolore, à odeur caractéristique et irritante ; on l'appelle formol lorsqu'il est en solution aqueuse. C'est le plus simple des aldéhydes.

Par dismutation<sup>5</sup>, il se transforme en méthanol (alcool méthylique) et en acide formique. Le méthanal polymérise dans l'eau ; le formol vendu dans le commerce contient aussi du méthanol pour limiter la polymérisation du méthanal, ce qui le rend impropre à du travail de laboratoire sérieux.

En mélange avec l'acide sulfurique, il va donner du **sulfoformol** (SF). Il colore en brun sombre le contenu des cystides et des laticifères, mais de manière inconstante : c'est pourquoi on l'utilise surtout macrochimiquement ; il réagit en bleu éclatant sur la chair de *Lactarius pergamenus* (= *L. glaucescens* ?).

Nous préférons le préparer extemporanément car il polymérise très facilement.

Le **benzaldéhyde** (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CHO ou C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O), ou aldéhyde benzoïque, est un liquide fluide, quasi incolore, à forte odeur d'amande amère ; c'est l'aldéhyde aromatique le plus simple. On l'utilise dans le kirsch fantaisie (note de noyau), la colle blanche et le traitement des vins. Naturellement, il est présent dans les pêches, le raisin, les fraises, les framboises, et est responsable de l'odeur des airelles ; on le rencontre chez le laurier cerise (*Prunus laurocerasus*) et chez *Russula laurocerasi*.

Il est préparé par oxydation du toluène ou par hydrolyse du diméthylchlorobenzène. Il se forme également par hydrolyse de l'amygdaline présente dans les amandes et dans les noyaux de certains fruits, notamment les abricots.

Au contact de l'air, de la lumière, et à température ambiante, le benzaldéhyde peut s'auto-oxyder lentement en acide benzoïque (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-COOH) dont l'odeur est désagréable. En milieu basique, il peut donner lieu à la réaction de Cannizzaro<sup>6</sup>.

En mélange avec l'acide sulfurique, il va donner du **sulfobenzaldéhyde** (SBA) qui va colorer en bleu sombre ou noir les pilécystides cuticulaires de certaines russules.

La **vanilline**<sup>7</sup> (C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>), ou vanillaldéhyde ou aldéhyde vanillique est un aldéhyde aromatique naturel qui se développe dans les gousses de vanille<sup>8</sup> (*Vanilla planifolia*) lors de la préparation de celles-ci comme épice. Elle se présente sous forme de cristaux ; c'est un composé aromatique important de la vanille qui lui doit son odeur.

En mélange avec l'acide sulfurique<sup>9</sup>, elle va donner de la **sulfovanilline**<sup>10</sup> (SV).

<sup>4</sup> FAVRE-BONVIN J., GLUCHOFF-FIASSON K. & BERNILLON J., 1982 - Structure du stéaryl-vélutinal, sesquiterpénoïde naturel de *Lactarius velutinus* Bert. Tetrahedron Letters, 23 (18) : 1907-1908.

<sup>5</sup> Ce sont des composés organiques qu'on rencontre dans la nature, similaires aux terpènes (classe d'hydrocarbures), et qui possèdent 3 unités isoprène (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>).

<sup>6</sup> C'est une dismutation (réaction d'oxydo-réduction où un corps chimique joue à la fois le rôle d'oxydant et de réducteur) : aldéhyde + base → alcool + sel d'acide carboxylique.

<sup>7</sup> En chimie organique, on la désigne sous le nom de 4-hydroxy-3-méthoxybenzaldéhyde. Elle fait partie de ce qu'on appelle les composés aromatiques parce que sa structure de base est une chaîne hydrocarbonée cyclique à six carbones : la vanilline dérive du benzène. C'est en réalité du benzaldéhyde (benzène pourvu d'une fonction aldéhyde : -CHO) dont l'hydrogène du carbone n° 4 a été remplacé (substitué, dit-on) par un groupement hydroxyle (-OH) tandis que celui du carbone n° 3 a été substitué par une fonction éther (-O-) portant un groupement méthyle (-CH<sub>3</sub>).

<sup>8</sup> Une gousse de 3 grammes n'en contient que 0,06 g. Elle a été extraite pour la première fois à l'état pur par le chimiste Vée. Le premier chimiste à avoir synthétisé la vanilline est Wilhelm Haarmann, en collaboration avec Ferdinand Tiemann (1874).

<sup>9</sup> Nous avons cette réaction : C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub> (vanilline) + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> → C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>S (sulfovanilline) + H<sub>2</sub>O

<sup>10</sup> La SV se prépare de manière extemporanée. La vanilline, dont la structure de base est un cycle benzénique, comprend plusieurs liaisons doubles entre atomes, ce qui la rend sensible aux radiations ultraviolettes. Il est donc impératif de la conserver à l'obscurité, et de préférence dans un flacon bien fermé, pour la protéger également de l'action oxydante de l'oxygène de l'air.



Au point de vue macrochimique, la sulfovanilline est surtout destinée à l'étude des russules, sur la chair desquelles elle provoque couramment de belles réactions rose-rouge vif (chez *Russula integra*, par exemple, d'après Bataille, 1969, et chez *R. aurora* – photo ci jointe).

A l'échelle microscopique, la sulfovanilline a la propriété de colorer en bleu noir ou gris ardoise le contenu des laticifères et des cystides (on parle alors de gléocystides ou de gloécystides) de nombreuses russules, ce qui permet de les déceler et de les étudier. Ce réactif est très précieux, notamment, pour la recherche des dermatocystides ou des caulocystides, qui passent facilement inaperçues dans les autres milieux d'observation :

elles sont bleu mauve foncé si SV+.

**Le pipéronal**<sup>11</sup> (C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>), ou héliotropine, est un composé aromatique aldéhydique de synthèse, découvert en 1869 par les chimistes Fittig et Mielk. Il se présente sous forme de cristaux transparents, brillants, et à odeur complexe, florale (héliotrope, Borraginacée), associée par certaines personnes à la vanille ou la cerise, assez proche également de la coumarine. Ce nom provient initialement de la pipérine (pipéryl-pipéridine), composé actif du poivre<sup>12</sup>. Il existe aussi à l'état naturel en petite quantité dans les feuilles de violette. Ce produit s'avère très difficile à trouver (distribution interdite au public)<sup>13</sup>. Il est sensible à la lumière et à la chaleur.

En mélange avec l'acide sulfurique, il va donner du **sulfopipéronal** (SP).

Selon P.A. Moreau<sup>14</sup> :

**« Les réactions au sulfopipéronal sont les plus visibles ; le sulfopipéronal est cité par Boidin et Marchand comme le plus sensible des réactifs sulfoaldéhydiques. Mais pour autant que nous ayons pu le remarquer, le sulfobenzaldéhyde fournit exactement les mêmes informations (le noircissement des cystides de russules est simplement plus prononcé avec le pipéronal !). ... »**

L'**anisaldéhyde** (C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>), ou aldéhyde anisique, ou 4(2)-Méthoxybenzaldéhyde, est d'origine végétale ; on le trouve notamment dans l'huile essentielle d'anis vert (*Pimpinella anisum*) et de badiane (*Illicium verum*). C'est un liquide transparent et incolore, volatile, sensible à la lumière, à odeur caractéristique d'anis ; il peut aussi se présenter sous formes de cristaux blancs à jaunâtres.

Il faut savoir que l'appellation est ambiguë, du fait de l'existence de 3 isomères : on devrait parler d'aldéhyde paraanisique : c'est le seul qui nous intéresse (par rapport à l'ortho- et métaanisique, où le radical méthoxy -OCH<sub>3</sub> n'est pas situé au même emplacement, par rapport à la fonction aldéhyde – CHO, sur la chaîne cyclique carbonée).

En mélange avec l'acide sulfurique, il va donner du **sulfoanisaldéhyde** (SA) : les réactions sont semblables à celles de la sulfovanilline, pour les laticifères des Russulales et les dermatocystides des russules.

On peut également utiliser une combinaison de benzaldéhyde et d'aldéhyde anisique, ce qui va donner du **sulfobenzaldéhyde anisique** (SBAA).

**La différence entre tous ces réactifs n'est finalement qu'une différence de sensibilité.**

<sup>11</sup> Ether protocatéchique de méthylène d'aldéhyde, ou encore 1.3 benzodioxole-5-carbaldéhyde.

<sup>12</sup> On retrouve également la pipérine chez *Chalciporus piperatus* (Bolétales).

<sup>13</sup> En effet, il est utilisé pour réaliser assez facilement la synthèse du MDA (3,4-méthylène-dioxy-amphétamine), qui est principalement utilisé comme drogue récréative. Le pipéronal est une alternative chimique au sassafras cambodgien pour la production d'ectasy (MDMA, ou 3,4-méthylène-dioxy-N-méthyl-amphétamine).

<sup>14</sup> Mycologue professionnel et Maître de conférences à la Faculté de Pharmacie de Lille.