



HAL
open science

Étude de l'impact de la matrice d'un fruit sur la libération et la perception des composés d'arôme en condition in vivo : application à la mangue fraîche ou transformée

Adeline Bonneau

► To cite this version:

Adeline Bonneau. Étude de l'impact de la matrice d'un fruit sur la libération et la perception des composés d'arôme en condition in vivo : application à la mangue fraîche ou transformée. Ingénierie des aliments. Université Montpellier, 2016. Français. NNT : 2016MONTT117 . tel-01726952

HAL Id: tel-01726952

<https://theses.hal.science/tel-01726952>

Submitted on 8 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

Pour obtenir le grade de
Docteur

Délivré par
l'Université de Montpellier

Préparée au sein de l'école doctorale
GAÏA, Filière APAB
(Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau)

Et de l'Unité Mixte de Recherche
**Démarche intégrée pour l'obtention d'aliments de
qualité (QualiSud)**

Spécialité : **Biochimie Physicochimie Alimentaire**

Présentée par : **Adeline BONNEAU**

**Étude de l'impact de la matrice d'un fruit sur
la libération et la perception
des composés d'arôme en condition *in vivo*.
Application à la mangue fraîche ou transformée.**

Soutenue publiquement le **25 Novembre 2016** devant le jury composé de

Pr. Carole PROST, *École Nationale Nantes Atlantique Vétérinaire* **Rapporteur**

Pr. Philippe DARRIET, *INRA, Université de Bordeaux* **Rapporteur**

Dr. Élisabeth GUICHARD, *Directeur de recherche, INRA, Dijon* **Examineur/
Présidente du jury**

Dr. Renaud BOULANGER, *UMR-Qualisud, CIRAD, Montpellier* **Examineur**

Pr. Ziya GUNATA, *UMR-Qualisud, Université de Montpellier* **Directeur
de thèse**

THÈSE

Pour obtenir le grade de
Docteur

Délivré par
l'Université de Montpellier

Préparée au sein de l'école doctorale
GAÏA, Filière APAB
(Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau)

Et de l'Unité Mixte de Recherche
**Démarche intégrée pour l'obtention d'aliments de
qualité (QualiSud)**

Spécialité : **Biochimie Physicochimie Alimentaire**

Présentée par : **Adeline BONNEAU**

**Étude de l'impact de la matrice d'un fruit sur
la libération et la perception
des composés d'arôme en condition *in vivo*.
Application à la mangue fraîche ou transformée.**

Soutenue publiquement le **25 Novembre 2016** devant le jury composé de

Pr. Carole PROST , <i>École Nationale Nantes Atlantique Vétérinaire</i>	Rapporteur
Pr. Philippe DARRIET , <i>INRA, Université de Bordeaux</i>	Rapporteur
Dr. Élisabeth GUICHARD , <i>Directeur de recherche, INRA, Dijon</i>	Examineur/ Présidente du jury
Dr. Renaud BOULANGER , <i>UMR-Qualisud, CIRAD, Montpellier</i>	Examineur
Pr. Ziya GUNATA , <i>UMR-Qualisud, Université de Montpellier</i>	Directeur de thèse

Remerciements

Je remercie tout d'abord les Membres du Jury de thèse qui m'ont fait l'honneur d'accepter de juger ce travail. Merci à Mme Carole PROST (Professeur à l'École Nationale Atlantique Vétérinaire de Nantes, ONIRIS) et Mr Philippe DARRIET (Professeur à l'Université de Bordeaux, INRA) à qui j'exprime toute ma gratitude pour leur participation en qualité de rapporteur et pour le temps qu'ils ont consacré à la lecture et à l'étude critique de ce manuscrit. Merci également à Mme Élisabeth GUICHARD (Directeur de recherche à l'INRA de Dijon, CSGA) d'avoir accepté d'examiner ce travail, et pour qui, je suis extrêmement reconnaissante quant à l'avis critique et scientifique ainsi que le soutien qu'elle a pu m'apporter dans l'avancée de ces travaux.

J'adresse mes plus sincères remerciements et toute ma reconnaissance à mon directeur de thèse, Mr Ziya GUNATA (Professeur à l'Université de Montpellier, UMR QualiSud), qui m'a donné l'opportunité de vivre cette expérience unique et la chance de réaliser ce travail de thèse. Je vous remercie de m'avoir fait confiance, de m'avoir encouragée, et d'avoir toujours été présent et disponible durant ces 3 années de thèse. Je vous remercie également de m'avoir fait partager votre expérience et vos connaissances scientifiques et de m'avoir fait découvrir le métier de chercheur dans ce qu'il a de plus authentique, intéressant et passionnant.

Je remercie la direction de Direction l'UMR QualiSud (CIRAD) et l'Université de Montpellier pour m'avoir accueillie dans leurs équipes de recherche et pour avoir financé ces travaux de thèse.

Un grand merci également à mes encadrants de thèse à l'UMR QualiSud, Mme Isabelle MARAVAL, Mr Renaud BOULANGER et Mr Marc LEBRUN pour leur appui, leur soutien, leur encadrement, leur disponibilité et leur implication dans ce projet. Merci à eux pour m'avoir fait partager leurs connaissances et expériences scientifiques dans le domaine des arômes.

Un grand merci à aussi à mes chers « cobayes humains » Marie-Christine, Karine, Isabelle, Christophe, Joël, Marc, Renaud et Ziya qui se sont courageusement portés volontaires et qui ont passé avec brio les diverses expériences *in vivo* menées au cours de ces travaux de thèse. Promis, vous allez pouvoir respirer et mastiquer librement vos aliments maintenant, quoique ...

Merci à Mr Jacques JOAS, Mr Marc VALENTE, Mr Jean-Michel MEOT, Mr Michel RIVIER et Mr Manuel DORNIER pour leur aide et connaissances apportées sur la mangué ainsi que sur la transformation des fruits. Merci à Mme Isabelle MARAVAL, Mr Christophe BUGAUD, Mr Xavier BRY et Mr Aurélien BRIFFAZ pour leurs appuis et connaissances scientifiques en analyses statistiques.

Je remercie également Mr Jérémy VALETTE, Mr Julien RICCI, Mr Adrien SERVENT et Mlle Virginie LEMAITRE pour leur aide et connaissances techniques apportées en laboratoire d'analyse et à la halle de technologie de transformation des fruits.

Mille mercis également à ceux qui ont partagé et vécu en même temps que moi, leur aventure de thèse, j'ai nommé bien sûr les doctorants de l'UMR QualiSud et autres unités de recherche. Merci à Céline, Yasmine, Layal et Guilhem (les « grands » qui ont fini leur thèse avant moi), pour leur soutien et les moments formidables passés ensemble. Merci aussi aux doctorants que je laisse derrière moi et à qui je souhaite le meilleur pour la suite de leur thèse, merci à Auriane, Didier, François, Carla, Fanny, Jessica, Dora, Camille, Ziad, André, Axel, Koumba, Bettencourt, Laëtitia, Félicitas, ... Et j'en oublie certainement ...

Merci à mes deux stagiaires Laurie et Gaëlle qui m'ont aidé dans l'avancée de mes travaux. Merci également aux autres stagiaires dont j'ai croisé le chemin et qui réaniment chaque année l'UMR QualiSud du mois février au mois d'août avec une belle énergie.

Merci aux sourires, aux blagues et à la bonne humeur des pauses café bien animées apportées par Jocelyne, Marie-Pierre (que je remercie pour la relecture de ce manuscrit), Gérard, Christian, Auriane, Adriana, Christophe ...

Enfin, de tout cœur, merci à ma petite famille qui a toujours été présente depuis le début de mes études et sans qui, je n'en serai pas là aujourd'hui. Merci de m'avoir épaulée dans les bons comme dans les mauvais moments, je vous dois beaucoup. Un grand merci et clin d'œil également à mes amis « civils » (Manilay, Céline, Karine, Anouck, ...) et amis « runners/traileurs » (Colline, Coline, Cécile, Oriane, Clémence, Alina, Claude, Sylvie, Marie, Nadine, Christophe, Mathieu, Jérémy...) qui m'ont soutenue avec beaucoup d'énergie dans cette aventure.

Merci à tous pour cette expérience inoubliable qui marque une de mes plus belles pages de vie et commence ma nouvelle et jeune expérience de chercheuse ...

Avant-propos

❖ Travaux de thèse et contexte scientifique

Les travaux de thèse présentés dans ce manuscrit s'inscrivent dans le cadre des activités scientifiques de l'équipe 1 (équipe scientifique axée sur la qualité sensorielle des produits frais et transformés) de l'unité mixte de recherche QualiSud¹ (UMR axée sur une démarche intégrée pour l'obtention d'aliments de qualité). Ces travaux suivent également une action scientifique² visant à une meilleure compréhension de l'impact et des relations existantes entre procédés de transformation, matrice alimentaire et qualité sensorielle des produits.

La présente thèse a été financée sous la forme d'un contrat doctoral par l'Université de Montpellier (bourse du ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche, MESR) et est rattachée à l'École Doctorale GAÏA (filière APAB).

❖ Valorisation des travaux de thèse

Les résultats obtenus au cours de ces travaux de thèse ont été valorisés sous la forme de 2 publications scientifiques dans des revues à facteur d'impact (une acceptée et une en projet), de 2 posters scientifiques et de 4 présentations orales lors de séminaires ou de congrès internationaux.

➤ *Publications dans des revues à facteur d'impact :*

Bonneau, A., Boulanger, R., Lebrun, M., Maraval, I. & Gunata, Z. (2016). Aroma compounds in fresh and dried mango fruit (*Mangifera indica* L. cv. Kent): impact of drying on volatile composition. *International Journal of Food Science & Technology*, 51, 789-800.

Bonneau, A., Boulanger, R., Maraval, I., Lebrun, M., Valette, J., Guichard E. & Gunata, Z. (2016). Impact of the fruit texture on the release and perception of aroma compounds during *in vivo* consumption using fresh and processed mango fruits. *Food Chemistry*, **En projet, soumission prévue pour octobre-novembre 2016 au journal Food Chemistry.**

¹ Site internet de l'UMR QualiSud, <http://umr-qualisud.cirad.fr/>

² Action scientifique 1 de l'UMR QualiSud, <http://umr-qualisud.cirad.fr/actions-scientifiques/impact-des-procedes-sur-les-relations-matrice-et-qualite-sensorielle>

➤ **Présentation orale lors d'un congrès international**

Bonneau, A., Boulanger, R., Lebrun, M., Maraval, I., Guichard E., & Gunata, Z. (à venir, 2-4 Novembre 2016). The impact of fruit texture and human saliva on the release of aroma compounds using fresh and dried mango samples. *Food Factor Symposium*, Barcelone, Espagne.

➤ **Présentations orales lors de séminaires**

Bonneau, A., Boulanger, R., Lebrun, M., Maraval, I. & Gunata, Z. (2016). De l'aliment à la perception aromatique : la libération des composés d'arôme. *Les Cafés QualiSciences, UMR QualiSud*, Montpellier, France.

Bonneau, A., Boulanger, R., Lebrun, M., Maraval, I. & Gunata, Z. (2016). Effect of fruit matrix on the release and perception of aroma compounds using fresh and processed mango fruits. *Journée de l'École Doctorale GAÏA, filière APAB*, Montpellier, France.

Bonneau, A., Boulanger, R., Lebrun, M., Maraval, I. & Gunata, Z. (2016). Impact de la matrice des fruits sur la libération et la perception des composés d'arôme en bouche avec des produits de mangue frais et transformés. *Journée de l'UMR QualiSud, Action scientifique n°1*, Montpellier, France.

➤ **Présentation poster lors d'un congrès international**

Bonneau, A., Boulanger, R., Maraval, I., Lebrun, M., Guichard E. & Gunata, Z. (2016), Effect of fruit matrix on the release and perception of aroma compounds using fresh and processed mango fruits, *11th Wartburg Symposium on Flavor Chemistry & Biology*, Eisenach, Germany

➤ **Présentation poster lors d'un séminaire**

Bonneau, A., Boulanger, R., Lebrun, M., Maraval, I. & Gunata, Z. (2015). *In vivo* analysis of the release of aroma compounds during consumption of mango products. *Journée de l'École Doctorale SP-SA*, Montpellier, France.

Liste des figures

Synthèse bibliographique	6
Figure 1. Les facteurs d'impact de la libération et de la perception des composés d'arôme pendant une dégustation produit.	8
Figure 2. Schéma de la technique PTR-MS utilisée pour le suivi de la libération des composés d'arôme.	18
Figure 3. Illustration du dispositif SPME <i>in vivo</i>	19
Figure 4. Illustration du dispositif RATD.	20
Figure 5. Exemple de simulateurs de mastication.	22
Figure 6. Tendances de libération des composés d'arôme observées sur différentes matrices réelles.	25
Figure 7. Taxonomie du manguier, exemple du cultivar Kent (<i>Mangifera indica</i> L. cv. <i>Kent</i>).	32
Figure 8. Anatomie du fruit du manguier.	32
Figure 9. Le cycle de vie du fruit du manguier.	33
Figure 10. Profil aromatique de variétés de mangues principalement produites à travers le monde (en % de composés volatils par classes chimiques).	41
Figure 11. Les facteurs d'impact de la variabilité aromatique de la mangue.	45
Figure 12 : Schéma du montage de Likens-Nickerson.	47
Figure 13. Montage de l'extraction SAFE.	49
Figure 14. Les étapes de l'extraction SPME.	50
Figure 15 : Les différents modes d'extraction P&T.	51
Figure 16. Schéma de la stratégie d'étude générale et de l'approche scientifique globale adoptées.	57
Matériel et Méthodes	59
Figure 17. (a) Duromètre manuel Durofel avec un embout plat calibré de 0.10 cm ² , (b) Positions des joues gauche et droite des mangues pour réaliser des mesures de fermeté au Durofel.	61
Figure 18. Fabrication des produits de mangue de l'étude.	62
Figure 19. Opération de séchage menée pour obtenir les produits de mangue séchés.	64
Figure 20. Les techniques SAFE en mode direct et indirect reportées dans la littérature.	69
Figure 21. Montage de l'extraction SAFE : (a) schéma du corps du montage SAFE extrait des travaux d'Engel <i>et al.</i> (1999), (b) photo du montage SAFE mis en place au CIRAD.	70

Figure 22. Les montages (a) SPME <i>in vivo</i> en « T » et (b) SPME <i>in vivo</i> en « T » avec restriction utilisés pour l'étude de la libération des composés d'arôme au cours de la consommation des produits de mangue.	79
Figure 23. Les montages (a) RATD simple et (b) RATD double utilisés pour l'étude de la libération des composés d'arôme au cours de la consommation des produits de mangue.	86
Figure 24. Présentation d'une session de dégustations pour un produit de mangue donné.	87
Figure 25. L'animation visuelle de calibration avec (a) l'exercice de respiration et (b) l'exercice de respiration et de mastication.	94
Figure 26. L'animation visuelle du blanc de l'air sujet.	94
Figure 27. L'animation visuelle de dégustation produit avec, (a) l'étape de mastication du produit, (b) l'étape de déglutition, (c) l'étape post-déglutition et (d) un panéliste en cours de dégustation produit avec le dispositif RATD.	95
Figure 28. Montage P&T <i>in vitro</i> utilisé pour tester la capacité d'extraction des tubes Tenax de l'étude.	99
Figure 29. Montage P&T <i>in vitro</i> utilisé pour valider le débit d'extraction en RATD.	100
Figure 30 : Déroulement d'une séance de dégustation en RATD simple avec étude de la libération <i>in vivo</i> des COVs sur le total des phases (phases pré-déglutition et post-déglutition).	103
Figure 31 : Déroulement d'une séance de dégustation en RATD double avec étude de la libération <i>in vivo</i> des COVs sur les phases pré-déglutition et post-déglutition.	103
Figure 32. Courbe de calibration et équation de quantification.	109
Figure 33. Présentation d'une session de récoltes des bols alimentaires sur produits de mangue.	112
Figure 34. Présentation d'une session de récoltes de salives humaines à l'état de repos.	114
Figure 35. Montage P&T <i>in vitro</i> utilisé pour étudier l'impact de la salive sur la libération des composés d'arôme de mangue.	116
Résultats et Discussion.....	124
Figure 36. Variabilité d'extraction intra et inter-tubes sur le total des COVs extraits.	155
Figure 37. Exemples de chromatogrammes RATD/GC-MS obtenus suite au test du temps de repos entre dégustations de 30 min. pour le sujet J4.	159
Figure 38. Les différentes tendances de libération <i>in vivo</i> des COVs possibles en phase pré- et post-déglutition.	160
Figure 39. Quantité de salive moyenne produite lors de la consommation des produit frais et séchés de mangue par le panel (ratio g de salive produite / g de produit consommé).	204
Figure 40. Quantité de salive moyenne produite lors de la consommation des produit de mangue par le panel en équivalent matière sèche (ratio g de salive produite / g de MS de produit consommé).	205
Figure 41. Quantité de salive moyenne produite au repos ou lors de la consommation des produits de mangue par le panel sur 32 sec. (g de salive produite sur 32 sec.).	206

Figure 42. Analyses sensorielles réalisées sur (a) les produits de mangue frais et (b) les produits de mangue séchés de l'étude.....214

Liste des tableaux

Synthèse bibliographique	6
Tableau 1. Travaux menés sur matrice modèle pour l'étude de la libération ou de la perception de composés volatils.	17
Tableau 2. Composition chimique de la pulpe de mangue fraîche.	37
Tableau 3. Les composés d'arôme principaux et communs de la mangue.	42
Tableau 4. Descripteurs sensoriels communément utilisés en analyse sensorielle sur produits de mangue.	54
Matériel et Méthodes	59
Tableau 5. Fibres SPME testées pour les expériences SPME <i>in vivo</i>	80
Tableau 6. Produits industriels utilisés pour l'entraînement <i>in vivo</i> des panelistes sur les animations visuelles RATD.	97
Tableau 7. Courbes de calibration établies pour quantifier les composés d'arôme observés en RATD <i>in vivo</i>	108
Tableau 8. L'ensemble des expériences P&T menées sur produits de mangue.	117
Tableau 9. Listes de descripteurs sensoriels et échelles de notation produits utilisés pour l'analyse sensorielle des produits de mangue.	122
Résultats et Discussion	124
Tableau 10. Comparaison des techniques SAFE/GC-MS en mode direct et indirect sur purée de mangue fraîche.	127
Tableau 11. Test d'extractabilité des COVs d'une purée de mangue fraîche par SPME <i>in vitro</i> pour 4 fibres SPME test (résultats bruts TIC).	150
Tableau 12. Potentiel d'extraction des 4 fibres SPME testées en condition <i>in vitro</i> sur purée de mangue fraîche.	151
Tableau 13. Variabilités d'extraction intra- et inter-tubes Tenax observées en condition <i>in vitro</i> par P&T/GC-MS sur solution modèle.	154
Tableau 14. Test des « tubes en série » en condition <i>in vitro</i> par P&T/GC-MS sur solution modèle, (Test de validation du débit d'extraction de 500mL/min choisi en RATD <i>in vivo</i>).	156
Tableau 15. Test des temps de repos entre dégustations produits en condition <i>in vivo</i> par RATD/GC-MS sur purée de mangue industrielle pour 2 panélistes du panel RATD.	158
Tableau 16. Test des phases pré et post-déglutition menés en RATD double/GC-MS sur purée et cubes industriels de mangue (2 panélistes, 4 dégustations).	162
Tableau 17. Composés d'arôme clé potentiels de l'arôme des produits de mangue frais et séchés.	193

Tableau 18 : Différences significatives de libération <i>in vivo</i> des COVs et variabilités intra- et inter-sujets sur produits de mangue frais pour les 8 panélistes RATD.....	197
Tableau 19 : Différences significatives de libération <i>in vivo</i> des COVs et variabilités intra- et inter-sujets sur produits de mangue séchés pour les 8 panélistes RATD.	198
Tableau 20. Tests d'optimisation du protocole de dégustation <i>in vitro</i> par P&T sur purée de mangue fraîche.....	208
Tableau 21. Impact de la salive humaine sur la libération <i>in vitro</i> des COVs des produits de mangue frais et séchés de l'étude par P&T/GC-MS	210

Liste des annexes

Annexe 1. Les montages SPME <i>in vivo</i> pour l'étude de de la libération des composés d'arôme au cours de la consommation des produits de mangue.	225
Annexe 2. Les montages RATD pour l'étude de de la libération <i>in vivo</i> des composés d'arôme au cours de la consommation des produits de mangue.....	226

Liste des abréviations

AEDA	Aroma Extract Dilution Analysis
ANOVA	Analyse de la Variance (avec Test de Tukey HSD)
API-MS	Atmospheric Pressure Ionisation Mass Spectrometry
AT	Acidité Titrable (en % méq. acide citrique)
AUC	Area Under the Curve
aw	Activité de l'eau (sans unité)
°Bx	Extrait sec soluble en °Bx (g de saccharose / 100g de produit)
CAR	Polymère adsorbant de carboxen
COVs	Composés Organiques Volatils
CV	Coefficient de Variation (en %)
DB-1701	Colonne mi-polaire de (14% cyanopropyl-phenyl)-méthylpolysiloxane
DB-WAX	Colonne polaire de polyéthylèneglycol
DVB	Polymère adsorbant de divinylbenzène
EIC	Extract Ion Current
ET	Ecart-type
Fast-GC-PTR-TOF-MS	Fast Gas Chromatography coupled with Proton Transfer Reaction Time-of-Flight Mass Spectrometry
FC	Facteur de Citation des COVs en analyse GC-O
FD	Facteur de Dilution obtenu par AEDA
GC	Gas Chromatography
GC-MS	Gas Chromatography coupled with Mass Spectrometry
GC-O	Gas Chromatography coupled with Olfactometry
HDMF	4-hydroxy-2,5-diméthyl-3(2H)-furanone (Furanéol)
HLC	Constante de Henry
HR	Humidité Relative (en %)
ID	Indice Durofel (Unité arbitraire)
I_{max}	Intensité maximale de COVs libérés en PTR-MS ou API-MS
IR	Indice de Rétention linéaire
Log P	Coefficient de partage octanol/eau
MDMF	4-méthoxy-2,5-diméthyl-3(2H)-furanone (mésifurane)
Moy	Moyenne
MS	Matière Sèche sur base humide exprimée (en %)
OAV	Odour Activity Value
OT	Odour Threshold

P&T	Purge and Trap
P&T/GC-MS	P&T Extraction and GC-MS analysis of volatile compounds
PA	Polymère adsorbant de polyacrylène
PDMS	Polymère adsorbant de polydiméthylsiloxane
PTR-MS	Proton Transfert Reaction Mass Spectrometry
PTR-TOF-MS	Proton Transfer Reaction Time-of-Flight Mass Spectrometry
RAE	Retinol Activity Equivalents
RATD	Retronasal Aroma Trapping device
RATD/GC-MS	RATD extraction and GC-MS analysis of volatile compounds
SAFE	Solvent Assisted Flavour Evaporation
SAFE/GC-MS	SAFE extraction and GC-MS analysis of volatile compounds
SDE	Simultaneous Distillation Extraction
SM	Spectre de Masse
SPME	Solid Phase MicroExtraction
SPME/GC-MS	SPME extraction and GC-MS analysis of volatile compounds
Tenax TA	Polymère adsorbant d'oxyde de diphenyl-2,6-diène
TIC	Total Ion Current

Table des matières

1. INTRODUCTION.....	1
2. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	6
2.1. De l'aliment à la perception des composés d'arôme	6
2.1.1. Définition de la flaveur d'un aliment	6
2.1.2. La perception des composés volatils	7
2.2. Les facteurs d'impact de la libération et de la perception des composés d'arôme pendant la consommation de produits alimentaires	8
2.2.1. Les facteurs impactant la libération des composés d'arôme	9
a) La matrice alimentaire	9
b) La physiologie orale des individus	13
2.2.2. Les facteurs impactant la perception des composés volatils	15
2.3. Étude de la libération et de la perception des composés d'arôme pendant la consommation de produits alimentaires	16
2.3.1. Les matrices d'étude	16
2.3.2. Approche <i>in vivo</i> de la libération des composés d'arôme	17
a) Méthodes de suivi continu <i>in vivo</i>	17
b) Méthodes de suivi discontinu <i>in vivo</i>	19
2.3.3. Approche <i>in vitro</i> de la libération des composés d'arôme	21
a) Approche <i>in vitro</i> dynamique	21
b) Approche <i>in vitro</i> statique	22
2.3.4. Étude de la perception des composés d'arôme	23
2.4. Études antérieures menées sur l'impact de la texture des fruits sur la libération et/ou la perception des composés volatils.....	24
2.4.1. Impact de la texture sur la libération <i>in vivo</i> des COVs	24
a) Sur matrices réelles	24
b) Sur matrices modèles	27
2.4.1. Impact de la texture sur la perception aromatique des COVs	28
2.4.2. Conclusion sur les études antérieures et sur la stratégie de l'étude à adopter	30
a) Des questions en suspens	30
b) Stratégie d'étude à mener et précautions à prendre	31
2.5. Fruit modèle de l'étude : la mangue.....	32
2.5.1. Présentation botanique	32
2.5.2. Production et consommation	34
a) Les pays producteurs et importateurs	34

b) Les principales variétés de mangues consommées à travers le monde	35
c) Valorisation et consommation	35
2.5.3. Composition et caractéristiques physicochimiques	36
a) Composition chimique et nutritionnelle	36
b) Suivi de la qualité des fruits et mesures physicochimiques au cours de la maturité et de la maturation	38
2.5.4. Profil aromatique	40
a) Les composés volatils	40
b) Formation et synthèse des composés d'arôme de mangue	43
c) Variabilités aromatiques multi-facteurs	44
2.5.5. Extractions et analyses des composés d'arôme sur produits de mangue	46
a) Extractions des composés d'arôme	46
b) Analyses physicochimique des composés d'arôme	52
c) Analyses sensorielles sur produits de mangue	53
2.6. Stratégie d'étude générale et approche scientifique globale	55
3. MATÉRIEL ET MÉTHODES	59
PARTIE 1 : MATIÈRE PREMIÈRE ET PRODUITS D'ÉTUDE	60
3.1. Constituer un lot de fruits homogènes	60
3.1.1. Choix des mangues à l'achat	60
3.1.2. Choix des mangues avant transformation produits	60
3.2. Fabrication des produits de mangue de l'étude	62
3.2.1. Préparation des fruits et de la chair de mangue	63
3.2.2. Confection des produits frais de mangues	63
3.2.1. Confection des produits séchés de mangues	64
3.3. Caractérisation physicochimique des produits de mangue	65
3.3.1. L'extrait sec soluble	65
3.3.2. Le pH et l'acidité titrable	66
3.3.3. L'activité de l'eau et la matière sèche	67
PARTIE 2 : CARACTÉRISATION DU PROFIL AROMATIQUE DES PRODUITS D'ÉTUDE	68
3.4. Extraction des composés d'arôme par la technique SAFE	68
3.4.1. Avant-propos	68
3.4.2. Le montage de l'extraction SAFE	69
3.4.1. Extraction des composés d'arôme par SAFE direct	70
3.4.2. Extraction des composés d'arôme par SAFE indirect	72

3.5. Analyses des composés d'arôme et exploitation des résultats.....	73
3.5.1. Matériel GC-MS et programmation	73
3.5.2. Identification des composés d'arôme	74
3.5.3. Quantification des composés d'arôme	75
3.5.4. Analyses statistiques.....	76
3.5.5. Le potentiel odorant des composés d'arôme et autres données scientifiques	77
PARTIE 3 : ÉTUDE DE LA LIBÉRATION DES COMPOSÉS D'ARÔME EN CONDITION IN VIVO PAR SPME/GC-MS	78
3.6. Les montages SPME <i>in vivo</i>	78
3.7. Protocoles de dégustation des produits et d'extraction des composés d'arôme en SPME <i>in vivo</i>	79
3.7.1. Choix d'une fibre SPME	79
3.7.2. Tests menés en SPME <i>in vivo</i>	81
a) Protocole de dégustation des produits	81
b) Protocole d'extraction des composés d'arôme par SPME <i>in vivo</i>	82
3.8. Analyses des composés d'arômes et exploitation des résultats	82
3.8.1. Matériel GC-MS et programmation	82
3.8.2. Exploitation des résultats.....	83
PARTIE 4 : ÉTUDE DE LA LIBÉRATION DES COMPOSÉS D'ARÔME EN CONDITION IN VIVO PAR RATD/GC-MS	85
3.9. Les montages RATD	85
3.10. Le panel RATD.....	87
3.11. Protocole de dégustation des produits et d'extraction des composés d'arôme en RATD	87
3.11.1. Organisation d'une session de dégustations produits	87
3.11.2. Les dégustations des produits de mangue	88
a) Matière première : les produits de mangue de l'étude	88
b) La période de dégustation.....	88
c) Les prises alimentaires	89
d) Les répétitions de dégustations produits	89
3.11.3. L'extraction des composés d'arôme en RATD.....	90
a) Choix du polymère adsorbant.....	90
b) Choix du débit d'extraction.....	91
3.11.4. Le temps de dégustation des produits et d'extraction des composés d'arôme en RATD.....	91
a) Le temps de dégustation des produits.....	91
b) Le temps d'extraction des composés d'arôme en RATD.....	92

3.11.5. Précautions prises pour les dégustations produits et l'extraction des composés d'arôme en RATD.....	92
a) Le blanc de l'air des sujets	92
b) Les animations visuelles RATD pour calibrer les cycles de respiration et de mastication des panélistes	93
c) L'entraînement du panel RATD.....	96
d) Les tubes de polymère Tenax de l'étude	98
3.12. Tests d'optimisation et de validation du protocole RATD	99
3.12.1. Tests de la capacité de piégeage des tubes Tenax.....	99
a) Tests <i>in vitro</i> mis en place en P&T pour tester les tubes Tenax	99
b) Tests <i>in vitro</i> intra et inter-tubes.....	100
3.12.2. Test des tubes en série.....	100
3.12.3. Test des temps de repos entre dégustations	101
3.12.4. Test des montages RATD et choix d'un montage pour l'étude <i>in vivo</i> ...	102
3.12.5. Test de dépôt de l'étalon interne.....	105
3.13. Analyses des composés d'arôme.....	105
3.13.1. Dépôt d'un étalon interne.....	105
3.13.2. Matériel de thermodésorption et programmation	106
3.13.3. Matériel GC-MS et programmation.....	106
3.13.4. Courbes de calibration	107
3.14. Exploitation des résultats.....	107
3.14.1. Identification des composés d'arôme.....	107
3.14.2. Quantification des composés d'arôme	108
a) Courbes de calibration.....	108
b) Équations de quantification	109
3.14.3. Analyses statistiques	110
PARTIE 5 : ÉTUDE DE LA LIBÉRATION DES COMPOSÉS D'ARÔME EN CONDITION IN VITRO : IMPACT DE LA SALIVE HUMAINE.....	111
3.15. Détermination de la quantité de salive à utiliser pour les expériences P&T <i>in vitro</i>	111
3.15.1. Organisation d'une session de récolte des bols alimentaires	111
3.15.2. Protocole de dégustation produit et de récolte des bols alimentaires	112
3.15.3. Évaluation de la quantité de salive produite	113
3.16. Récolte d'un pool de salives humaines	114
3.16.1. Organisation d'une session de récolte de salives humaines.....	114
3.16.2. Protocole de récolte des salives humaines	114
3.17. Expériences <i>in vitro</i> menées sur la libération des composés d'arôme	115

3.17.1.	Optimisation d'un protocole P&T <i>in vitro</i>	115
3.17.2.	Expériences P&T <i>in vitro</i> appliquées sur les produits de mangue.....	117
a)	Matière première : les produits de mangue de l'étude	117
b)	Organisation des expériences <i>in vitro</i>	117
c)	Choix du protocole P&T <i>in vitro</i>	118
3.18.	Analyse des composés d'arôme et exploitation des résultats.....	118
PARTIE 6 : ÉTUDE DE LA PERCEPTION DES COMPOSÉS D'ARÔME EN ANALYSE SENSORIELLE.....119		
3.19.	Le panel d'analyse sensorielle	119
3.20.	Préparation et service des produits de mangue d'entraînement et d'étude	119
3.20.1.	Les produits de mangue d'entraînement	119
3.20.2.	Les produits de mangue de l'étude	120
3.20.3.	Le service des produits de mangue	120
3.21.	Sessions d'entraînement et d'évaluation des produits de mangue.....	120
3.22.	Traitement des résultats et analyses statistiques	121
4.	RÉSULTATS ET DISCUSSION	124
PARTIE 1 : LE PROFIL AROMATIQUE DES PRODUITS DE MANGUE DE L'ÉTUDE ..		
.....125		
4.1.	Choix d'une technique d'extraction des composés d'arôme de mangue	125
4.1.1.	Choix de la technique SAFE	125
4.1.2.	Choix et mise en place d'un protocole SAFE	125
4.2.	Le profil aromatique des produits de mangue frais et séchés de l'étude.....	129
4.2.1.	Application du protocole SAFE direct aux produits d'étude	129
4.2.2.	Impact du séchage sur le profil aromatique de la mangue fraîche	129
a)	Contexte de l'étude.....	129
b)	Résultats obtenus sur l'impact du séchage sur l'arôme de mangue fraîche	130
c)	Résumé et résultats principaux obtenus	143
4.3.	Conclusion	145
PARTIE 2 : LA LIBÉRATION DES COMPOSÉS D'ARÔME EN CONDITIONS <i>IN VIVO</i> ET <i>IN VITRO</i>		
.....146		
4.4.	Étude de la libération des composés d'arôme en condition <i>in vivo</i>	149
4.4.1.	Suivi de la libération <i>in vivo</i> des composés d'arôme par SPME/GC-MS	149
a)	Choix d'une fibre SPME	149
b)	Tests d'optimisation et de validation du protocole SPME <i>in vivo</i>	152

c) Conclusion.....	152
4.4.2. Suivi de la libération <i>in vivo</i> des composés d'arôme par RATD/GC-MS....	153
a) Tests d'optimisation et de validation du protocole	153
b) Conclusion sur la technique RATD/GC-MS à appliquer à l'étude de la libération des composés d'arôme de mangue en condition <i>in vivo</i>	164
4.4.3. Étude de l'impact de la texture des produits de mangue frais et séchés sur la libération <i>in vivo</i> des COVs par RATD/GC-MS	167
a) Présentation de l'étude	167
b) Résultats obtenus sur l'impact de la texture de la mangue fraîche et séchée sur la libération <i>in vivo</i> des COVs.....	168
c) Résultats complémentaires	192
d) Résumé et résultats principaux obtenus sur la libération <i>in vivo</i> des COVs des produits de mangue	199
4.4.4. Conclusion.....	202
4.5. Étude de l'impact de la salive humaine sur la libération des composés d'arôme de mangue en condition <i>in vitro</i>	203
4.5.1. Étude des bols alimentaires : détermination du ratio salive/produits de mangue.....	204
4.5.2. Récolte d'un pool de salives humaines : observation des flux salivaires de repos et stimulés sur produits de mangue	206
4.5.3. Expériences menées en conditions <i>in vitro</i>	207
a) Optimisation du protocole <i>in vitro</i>	207
b) Application du protocole <i>in vitro</i>	209
4.5.4. Conclusion sur l'impact de la salive humaine sur la libération des composés d'arôme de mangue.....	211
PARTIE 3 : LA PERCEPTION DES COMPOSÉS D'ARÔME PAR ANALYSE SENSORIELLE.....	213
5. CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES.....	219
ANNEXES	224
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	228

1. Introduction

1. Introduction

En agroalimentaire, le challenge principal des industriels est de concevoir des produits toujours plus goûteux et attractifs pour le consommateur. Notre comportement et nos préférences alimentaires sont principalement influencés par la composante aromatique des aliments. Or, notre perception rétronasale dépend, en grande partie, de la libération *in vivo* des composés organiques volatils (COVs) présents dans l'aliment et qui définissent l'arôme du produit. Cette libération *in vivo* est elle-même influencée par :

- la matrice alimentaire de par : la nature et la quantité des COVs ; des composants non-volatils tels que les lipides, protéines, glucides, polyphénols, etc. ; et la texture du produits (liquide, semi-solide, solide, visqueux, micelles, réseau cellulaire, etc.).
- la physiologie orale des sujets de par : la mastication, la salivation, la respiration et la déglutition du sujet ainsi que le temps de consommation et de préparation du bol alimentaire.

De nombreux travaux scientifiques se sont ainsi axés sur l'étude de l'impact des facteurs matriciels des aliments sur la libération *in vivo* et la perception aromatique des COVs pour aider à l'amélioration, la formulation et à la création de nouveaux produits alimentaires.

Dans le cas des fruits, considérés comme matrices réelles complexes, plusieurs études *in vivo* ont déjà été reportées concernant l'impact du stade de maturité ou de la variété du fruit (Friel, Wang, *et al.*, 2007; Ting, Romano, *et al.*, 2016; Ting, Soukoulis, *et al.*, 2012), des composants matriciels non-volatils (taux de sucre, d'acides organiques, pectines etc.)(Baldwin, Goodner, *et al.*, 2008; Boland, Delahunty, *et al.*, 2006; Harker, Marsh, *et al.*, 2002; Malundo, Shewfelt, Ware, *et al.*, 2001; Marsh, Friel, *et al.*, 2005) et des procédés de transformation (pasteurisation, confisage, séchage, etc.)(Keenan, Brunton, *et al.*, 2012; Ledeker, Chambers, *et al.*, 2012; Ledeker, Suwonsichon, *et al.*, 2014) sur la libération *in vivo* et/ou sur la perception aromatique des COVs. En revanche, l'impact de la texture des fruits sur la libération *in vivo* et la perception aromatique des COVs est un sujet jusqu'alors peu exploité. En effet même si certaines études se sont intéressées en partie à ce sujet, jusqu'à présent, l'impact texture des fruits a toujours été traité en interaction avec d'autres facteurs ou

bien sur des produits de fruits non comparables d'un point de vue aromatique (même nature et quantité de COVs) et/ou matriciel (même teneur en glycoside, acides organique, matière sèche, etc.), (Boland, Delahunty, *et al.*, 2006; Frank, Eyres, *et al.*, 2012; Ting, Romano, *et al.*, 2016; Ting, Soukoulis, *et al.*, 2012).

Pour étudier les facteurs d'impact de la libération et/ou de la perception aromatique des COVs, des expériences peuvent être menées sur matrices modèles ou bien réelles, avec un panel de sujets humains (étude *in vivo*) ou bien à l'aide de simulateur de dégustation (étude *in vitro*). Les matrices modèles permettent de contrôler la composition matricielle de l'aliment cible, et les simulateurs de dégustation permettent de contrôler les paramètres physiologiques oraux de l'étude. Dans les deux cas, de nombreux biais expérimentaux sont ainsi évités (produits aromatiques comparables, variabilités physiologiques orales intra- et inter-individuelles inexistantes). Cependant, l'utilisation de matrices modèles et/ou de simulateurs de dégustation induit que l'étude s'éloigne des conditions réelles de consommation. Ainsi, les études menées en *in vivo* sur matrices réelles complexes sont bien moins nombreuses que les études menées en *in vitro* sur matrices modèles.

C'est dans ce contexte que s'inscrivent ces travaux de thèse. Le sujet porte la compréhension de l'impact de la texture d'un fruit (état textural structuré/déstructuré) sur la libération *in vivo* et la perception aromatique des COVs dans le cas de produits de fruits frais ou transformés.

Les objectifs principaux de ce travail de thèse sont donc d'étudier l'impact de la texture de différents produits de fruit sur la libération *in vivo* des COVs d'une part et sur la perception aromatique des COVs d'autre part, en utilisant des produits comparables et un panel de sujets humains.

Pour répondre à ces objectifs de recherche, la mangue a été choisie comme fruit modèle de l'étude pour son potentiel aromatique intéressant et sa capacité à se décliner en différents produits. La variété de mangue *Kent* de par ses propriétés organoleptiques et sa disponibilité sur le marché européen a été naturellement choisie pour confectionner les produits de mangue de l'étude. En tout, quatre produits de mangue aux textures bien différentes ont constitué les matrices de fruit de l'étude. À partir d'un lot de fruits homogènes, deux produits de mangue frais (cubes et purée) et deux produits de mangue séchés (cubes et poudre) ont ainsi été élaborés. Les deux produits frais sont identiques au niveau de leur profil aromatique (nature et quantité des COVs) et de leurs propriétés physicochimiques (°Bx, pH, acidité titrable,

matière sèche, a_w), mais différents de par leurs textures (un produit structuré et un produit déstructuré). Il en va de même pour les produits séchés de l'étude.

Les travaux de thèse ont été menés suivant 3 axes d'études pour répondre aux objectifs de recherche posés. Dans un 1^{er} temps, le potentiel aromatique des produits de mangue a été étudié au moyen de la technique d'extraction SAFE (*Solvent assisted flavor evaporation*) couplée à la GC-MS (*Gas Chromatography coupled with Mass Spectrometry*). Par calcul de l'OAV (*Odour Activity Value*) et des données de la littérature, les COVs potentiellement impactants dans l'arôme des produits de mangue ont ainsi été mis en évidence. Dans un 2^{ème} temps, la libération *in vivo* des COVs émis par voie rétronasale pendant la consommation des produits de mangue a été étudiée avec un panel de 8 sujets au moyen de la technique RATD (*Retronasal Aroma-Trapping Device*) couplée à la GC-MS. Pour rendre comparable la libération *in vivo* des COVs entre les produits de mangue et pour limiter au mieux les variations orales physiologiques intra- et inter-individuelles, un protocole de dégustation a été imposé aux panélistes (cycle de respiration, mastication, déglutition et temps de dégustation des produits imposés) au moyen d'une animation visuelle. Les résultats obtenus ont suggéré des expériences complémentaires en condition *in vitro* par P&T (*Purge and Trap*) pour évaluer l'impact de la salive humaine sur la libération des COVs des produits de mangue. Enfin, dans un 3^{ème} temps, le profil sensoriel des produits de mangue de l'étude a été évalué en analyse sensorielle avec un panel de 10 sujets entraînés. L'odeur, les saveurs, la texture, et les notes aromatiques des produits ont ainsi été décrits.

Les résultats obtenus sur ces 3 axes d'études en conditions *in vivo* et *in vitro* ont été réunis, confrontés et discutés pour répondre à la problématique de thèse.

Le présent manuscrit se découpe classiquement en trois chapitres avec :

- une ***synthèse bibliographique***, faisant un état des lieux des études, outils, méthodes, et protocoles déjà réalisés sur la libération *in vivo* et la perception aromatique des COVs de manière générale et puis, plus spécifiquement sur fruits. Une partie est également dédiée à la présentation de l'arôme de mangue et des études qui en découlent (extraction, analyses physicochimiques, analyse sensorielle, etc.).
- un ***matériel et méthodes***, avec les différents outils et protocoles utilisés et mis en place ayant permis de suivre la stratégie d'étude adoptée et de répondre aux objectifs de recherche posés.

- enfin une partie ***résultats et discussion***, avec les résultats obtenus sur les 3 axes de recherche de l'étude et discutés avec les travaux précédemment menés dans la littérature.

Une conclusion générale, en fin de manuscrit, résume les résultats principaux obtenus et les avancées scientifiques faites dans le domaine de la libération *in vivo* et de la perception aromatique des COVs sur fruit ainsi que les perspectives d'étude à envisager.

2. Synthèse bibliographique

2. Synthèse bibliographique

2.1. De l'aliment à la perception des composés d'arôme

2.1.1. Définition de la saveur d'un aliment

La saveur d'un aliment est caractérisée par quatre notions importantes qui sont l'odeur, les saveurs, les sensations trigéminales et l'arôme du produit.

L'*odeur* est définie par un mélange de composés organiques volatils (COVs) qui sont libérés de la matrice et perçus directement au nez, au niveau de l'épithélium olfactif du sujet. La perception olfactive est aussi appelée perception nasale directe ou encore perception orthonasale. Un grand nombre de molécules peuvent être responsables de l'odeur d'un produit : des alcools, aldéhydes, cétones, acides carboxyliques, esters, lactones, furanes, etc.

Les *saveurs* et les *sensations trigéminales* sont des sensations gustatives (Tournier, Sulmont-Rossé, *et al.*, 2007). Elles sont générées par des molécules non-volatiles appelées *tastants* libérés au cours de la déstructuration du produit en bouche. Il existe cinq saveurs connues à ce jour : le salé, le sucré, l'acide, l'amer et l'umami. Elles sont perçues principalement sur la langue, en différentes zones, par les bourgeons du goût. Un grand nombre de *tastants* ont été mis en évidence et contribuent aux saveurs salée (NaCl, KCl, etc.), sucrée (glucose, sucrose, aspartame, acésulfame-K, etc.), acide (acide citrique, malique, tartrique, etc.), amer (quinines, acides aminés) et umami (acides aminés, L-glutamate, etc.). Les sensations trigéminales sont perçues sur l'ensemble de la muqueuse buccale et sont définies par des impressions de pseudo-chaleur (chaud/froid) ou d'irritations (astringent, piquant). Des sensations de chaud/piquant peut être générées par des alcaloïdes (capsaïcine, pipérine, sinigrine, etc.), de froid par des « cooling agent » (menthol, eucalyptol, N-éthyl-p-menthane-3-carboxamide ou WS-3, etc.), de piquant par des acides organiques (acide citrique, lactique, succinique, etc.) ou d'astringence par des acides phénoliques ou flavonoïdes (acide caféique, (+)-catéchine, tannins, etc.).

L'*arôme* du produit est caractérisé par un mélange de COVs libérés de la matrice au cours de la dégustation du produit, et perçus par l'épithélium olfactif par voie nasale indirecte. La perception aromatique est une perception rétronasale, c'est-à-dire que les COVs

sont relargués dans l'air de la cavité orale lors de la déstructuration du produit, puis, sont dirigés vers la cavité nasale par le pharynx en fonction de la respiration du sujet. Les COVs perçus par cette voie sont aussi appelés composés d'arôme. Tout comme pour l'odeur, l'arôme du produit peut être constitué d'une multitude de molécules de nature chimique différente.

Les perceptions olfactives, aromatiques et gustatives d'un sujet peuvent être aussi influencées par les autres sens tels que la vue, le toucher, ou l'ouïe. Ainsi, la couleur, l'aspect ou la texture du produit peuvent influencer la perception de la saveur du produit (Delwiche, 2004; Shankar, Levitan, *et al.*, 2010). De même, certaines molécules volatiles peuvent influencer les perceptions gustatives du sujet. Réciproquement, certains tastants peuvent générer des impressions aromatiques ou olfactives (Delwiche, 2004; Djordjevic, Zatorre, *et al.*, 2004; Lawrence, Salles, *et al.*, 2009). Des interactions cognitives multiples existent donc entre les organes des sens et sont à l'origine de la perception globale de la saveur de l'aliment (Tournier, Sulmont-Rossé, *et al.*, 2007).

2.1.2. La perception des composés volatils

Une fois présentes dans la cavité nasale, les molécules volatiles émanées de la matrice, par voie directe ou indirecte, se piègent dans le mucus qui recouvre l'ensemble de la muqueuse olfactive. Les molécules volatiles diffusent ensuite à travers ce mucus, majoritairement composé d'eau, suivant leur hydrophobicité et leur affinité pour celui-ci, ou bien celles-ci sont prises en charge par molécules de transport (OBP, odorant binding protein). Les molécules volatiles rejoignent ainsi l'épithélium olfactif où elles seront détectées par des neurones olfactifs. Ces neurones présentent en leur extrémité des cils olfactifs qui possèdent des protéines transmembranaires appelées récepteurs olfactifs. La complexation des molécules volatiles avec ces récepteurs génèrent des cascades réactionnelles biochimiques conduisant à la naissance d'un message nerveux. L'interaction entre une molécule volatile donnée et un récepteur provoque un changement de conformation protéique du récepteur. Ceci entraîne l'activation de la protéine G puis de l'adénylate cyclase et s'en suit une synthèse d'ATP avec conversion en AMPc. Ces réactions en chaîne provoquent l'ouverture de canaux transmembranaires avec échanges d'ions entre le milieu extra- et intra-cellulaire (Ca^{2+} , Na^{+}) provoquant ainsi la dépolarisation du neurone olfactif et la naissance d'un message nerveux. Le signal est ensuite transmis au bulbe olfactif puis au

système nerveux central. Le cerveau traite ensuite l'information et l'interprète en notes olfactives ou gustatives.

Dans le cadre de cette étude, seules la libération rétronasale et la perception aromatique des COVs sont étudiées.

2.2. Les facteurs d'impact de la libération et de la perception des composés d'arôme pendant la consommation de produits alimentaires

Il existe un grand nombre de facteurs qui peuvent impacter la libération et la perception des composés d'arôme pendant le processus de consommation d'un produit alimentaire (Figure 1).

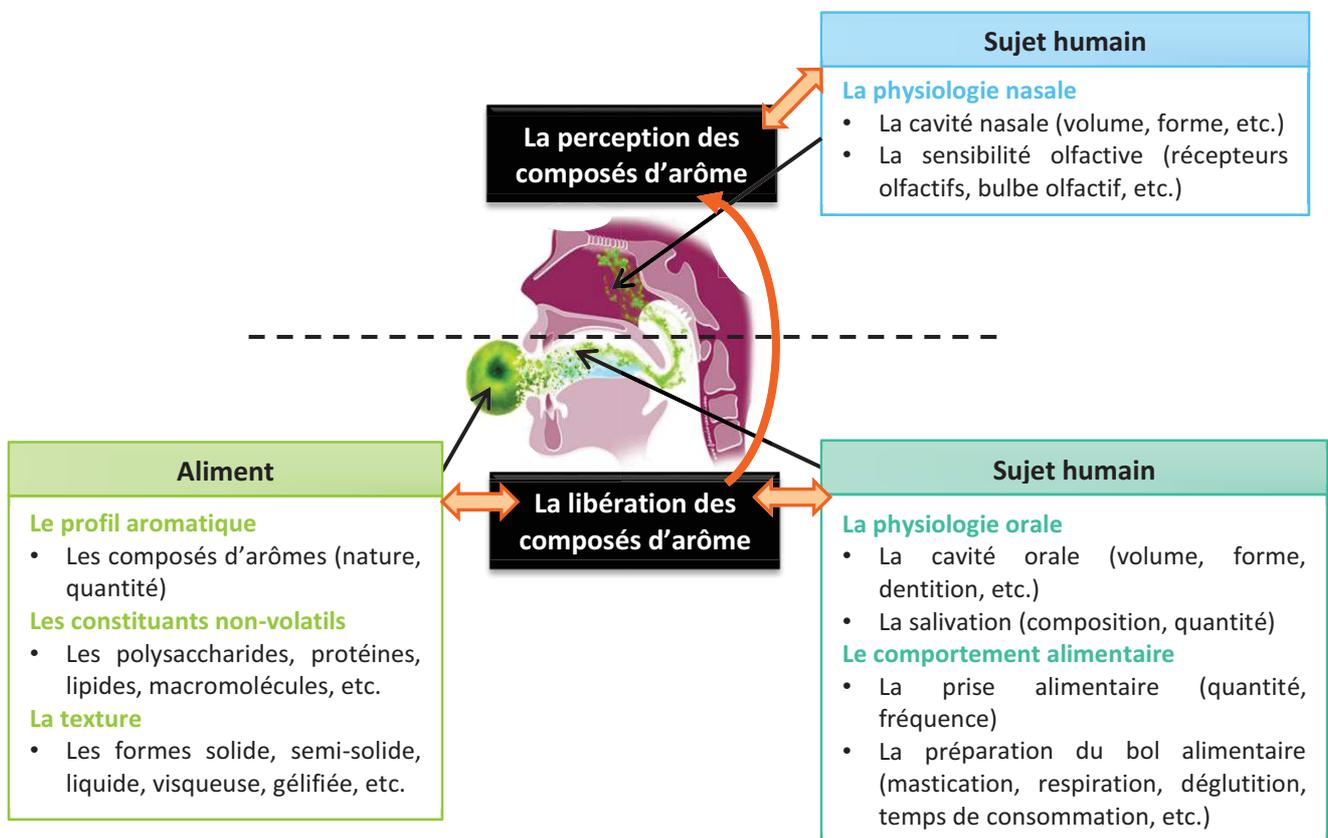


Figure 1. Les facteurs d'impact de la libération et de la perception des composés d'arôme pendant une dégustation produit.

La nature de l'aliment et la physiologie orale du sujet impactent grandement la libération des composés d'arôme, tandis que la physiologie olfactive du sujet et les composés d'arôme libérés déterminent la perception aromatique du produit. Ces facteurs d'impact sont présentés ci-après.

2.2.1. Les facteurs impactant la libération des composés d'arôme

a) La matrice alimentaire

La matrice d'un aliment est définie par ses *composants volatils* et *non-volatils* ainsi que par l'agencement de ces composants pour former la *texture* du produit.

i) Les composés d'arôme

Les propriétés physicochimiques des composés d'arôme influencent grandement leur libération en bouche lors de la consommation de produits alimentaires.

La libération des composés est souvent expliquée et reliée aux propriétés volatiles et hydrophobes de ces composés. Ces deux notions sont caractérisées dans la littérature par les grandeurs suivantes (Kopjar, Andriot, *et al.*, 2010; Savary, Guichard, *et al.*, 2006; Savary, Lafarge, *et al.*, 2007) :

- la masse molaire.
- le point d'ébullition.
- VPs, la pression de vapeur saturante. Les composés ayant une VPs inférieure à 10^{-4} mmHg (25°C) sont volatils.
- K, le coefficient de partage du composé entre l'air et matrice, évalué par calcul du ratio des concentrations du composé entre la phase gazeuse et la matrice alimentaire. Les composés ayant un K inférieur à 1 sont davantage retenus par la matrice.
- le $\log P_{(o/w)}$, le coefficient de partage du composé entre l'eau et l'octanol (souvent pris comme solvant de référence), évalué par calcul du ratio des concentrations du composé entre l'octanol et l'eau. Les composés ayant un $\log P_{(o/w)}$ inférieur à 1 sont hydrophiles.
- WS, la solubilité du composé dans l'eau, les composés ayant une WS inférieure à 0.1 sont hydrophobes.
- HLC, la constante de Henry, les composés ayant une HLC supérieure à $0.1 \text{ atm.m}^3.\text{mol}^{-1}$ sont hydrophobes.

En fonction de la nature de la matrice alimentaire étudiée (aqueuse ou lipidique), il est admis d'utiliser certains de ces paramètres pour interpréter les résultats de libération aromatique obtenus.

ii) Les composants matriciels non-volatils

Les composants non-volatils de la matrice jouent un rôle non négligeable dans la libération des composés d'arôme au cours de la dégustation. Ces derniers peuvent établir des liaisons chimiques faibles et réversibles (liaison hydrogènes, liaison de Van der Waals, interaction hydrophobe, etc.), ou fortes et irréversibles (liaisons covalente) avec les composés d'arôme, provoquant ainsi une rétention plus ou moins grande des volatiles dans la matrice alimentaire. Les classes chimiques de composés non-volatils les plus étudiées jusqu'ici dans ce domaine sont les protéines, les glucides, lipides et les polyphénols dans une moindre mesure.

Dans le cas des *protéines*, les protéines des milieux dispersés (lait, fromage, œuf) et les protéines présentes naturellement dans certains végétaux (soja) sont les plus étudiées (Guichard, 2002). On note ainsi des études menées sur la β -lactoglobuline, la caséine, l'albumine ou encore la gélatine. Les tendances observées sont que les protéines ont un effet de rétention sur des molécules volatiles telles que l'hexanal, la vanilline, la octan-2-one, la β -ionone, la γ -octalactone, etc. L'établissement de liaisons entre protéines et composés d'arôme dépend avant tout des propriétés physicochimiques des deux entités. Les interactions protéine-composés d'arôme sont donc étudiées au cas par cas en fonction des composés et de la matrice considérée.

Dans le cas des *glucides*, les sucres simples (fructose, glucose, sucrose etc.) et les polysaccharides (pectines, amidon, cyclodextrines, maltodextrines, etc.) ont aussi été étudiés pour leurs interactions possibles avec les COVs. Pour les *sucres simples*, un effet « salting-out » a été observé sur certains COVs en fonction du taux et de la nature du sucre en solutions aqueuse (Hansson, Andersson, *et al.*, 2001). Pour les *polysaccharides*, en revanche, un effet « salting-in » des volatils est observé en fonction du taux et de la nature du polysaccharide (Guichard, 2002; Tournier, Sulmont-Rossé, *et al.*, 2007). Cet effet de rétention est avant tout expliqué par le fait que les polysaccharides jouent un rôle important dans la texture du produit. Les polysaccharides de type pectines, amidon, xanthane, carraghénanes, sont des agents texturant qui peuvent modifier le degré de viscosité et/ou de gélification de la matrice en fonction de leur concentration. De même les polysaccharides de type cyclodextrines ou maltodextrines sont des agents d'encapsulation dont la structure permet des inclusions moléculaires où les COVs peuvent être piégés. Ainsi, les polysaccharides forment un réseau matriciel complexe et microstructuré où la diffusion des COVs, au sein et en dehors de la matrice, s'en trouve alors diminuée du fait d'encombrement

stérique ou de l'établissement de liaisons faibles entre les volatiles et la structure matricielle. Les études menées sur les polysaccharides de type agents texturants (pectine, amidon, ect.) montrent une tendance qui est que l'augmentation de la concentration en agent texturant est accompagnée d'une augmentation de la viscosité et/ou de la gélification de la matrice et d'une diminution de la libération des volatiles en bouche (Boland, Delahunty, *et al.*, 2006). Concernant les polysaccharides de type encapsulation, des tendances de rétention ont pu être observées suivant les propriétés physicochimique des composés (classe chimique, poids moléculaire, polarité et volatilité). Ainsi Goubet, Le Quere, *et al.* (1998) ont démontré que la rétention des composés par les cyclodextrines et maltodextrines est d'autant plus importante lorsque le poids moléculaire est élevé, que la polarité est faible, que la volatilité relative est faible, et suivant la classe chimique du composé (alcool > cétones > ester > aldéhyde > acide).

Les *lipides* sont les composés non-volatils qui impactent le plus la libération des composés d'arôme (Guichard, 2002). L'effet des lipides sur les COVs a été étudié principalement sur des matrices modèle de type émulsions huile dans eau (o/w) ou eau dans huile (w/o), sur des fromages ou desserts laitiers (lait, yaourt, etc.), (Guichard, 2002; Poinot, Arvisenet, *et al.*, 2013). Les molécules hydrophobes, affines pour les phases huileuses, sont naturellement retenues par celles-ci. Cette rétention est d'autant plus forte que la quantité de phase huileuse est importante comme le montrent Van Ruth, King, *et al.* (2002) pour les émulsions o/w. Les auteurs Frank, Eyres, *et al.* (2012) ont aussi mis en évidence dans des matrices grasses telles que le fromage, le chocolat et les cacahuètes, que la réduction de la fraction lipidique induisait une augmentation de la libération *in vivo* des COVs. Des études ont aussi montré que les classes chimiques et les propriétés physicochimiques des composants lipidiques influençaient également le relargage des COVs (Guichard, 2002).

D'autres composés non-volatils ont également été étudiés quant à leur impact sur la libération des COVs. Munoz-Gonzalez *et al.* (Munoz-Gonzalez, Martin-Alvarez, *et al.*, 2014a; Muñoz-González, Rodríguez-Bencomo, *et al.*, 2014) ont ainsi mis en évidence dans le vin que l'augmentation du taux d'éthanol ou du taux de polyphénols permet de relarguer davantage de composés d'arôme en bouche. Van Ruth, King, *et al.* (2002) ont, quant à eux, mis en évidence que pour des émulsions de type o/w l'augmentation du taux d'émulsifiant, pour une même quantité d'huile, permettait de mieux disperser la phase huileuse en phase aqueuse (taille des gouttelettes d'huile plus petite) favorisant ainsi la rétention des composés d'arôme en bouche. Enfin, les auteurs Lauerjat, Délérís, *et al.* (2009) ont montré que la

présence de sels dans des fromages peut avoir un effet « salting-out » sur les composés d'arôme.

iii) Texture et structure de la matrice alimentaire

Les composés non-volatils de la matrice influencent grandement la texture et le réseau matriciel final du produit. Les protéines tout comme les lipides contribuent à l'élaboration de milieux émulsionnés o/w ou w/o avec une phase aqueuse et huileuse non miscibles sous la forme de gouttelettes plus ou moins fines. Les émulsions peuvent être liquides (lait, soda), semi-solides (crème, beurre) ou solides (fromage). Ou encore, les polysaccharides forment quant à eux des matrices avec un réseau plus ou moins complexe de textures visqueuses (confiture), gélifiées (dessert lacté) ou bien solides (chair des légumes ou fruits).

La texture et la structure de la matrice peuvent impacter la diffusion des composés au sein de la matrice et limiter leur passage en phase vapeur au moment de la dégustation du produit. Cette rétention, comme évoquée précédemment, peut être induite par un encombrement stérique des molécules volatiles dans le réseau matriciel ou bien par établissement de liaisons chimiques entre les volatiles et les constituants matriciels non-volatils.

Différentes études rapportent des tendances de libération *in vivo* des COVs en fonction de la texture et du réseau matriciel de produits alimentaires. Par exemple, dans le cas d'émulsions o/w, plus la taille des gouttelettes d'huile est fine, plus les volatiles sont retenus par la matrice (Frank, Appelqvist, *et al.*, 2011). Les auteurs Frank, Eyres, *et al.* (2012) rapportent que les matrices solides relarguent davantage de COVs en *in vivo* que leurs matrices aromatiques homologues semi-solides ou liquides et ceci sur produits à base de chocolat, fromage, cacahuète, orange et carotte. Ou encore, Hansson, Giannouli *et al.* (2003) ont observé qu'un gel ferme de pectines libérait moins de COVs en *in vivo* qu'un gel de pectines aromatiques homologue moins ferme.

La diversité des résultats obtenus d'une étude à l'autre, (même pour des matrices d'étude parfois très proches) montre que l'impact de la texture seul ne peut expliquer entièrement ces tendances de libération *in vivo*. En effet, la libération rétronasale des COVs est souvent la résultante de multiples facteurs d'impact qu'il est souvent difficile de dissocier.

b) La physiologie orale des individus

La libération des composés d'arôme peut être influencée par la physiologie orale des individus faisant intervenir des processus mécaniques et physicochimiques. La physiologie orale étant variable d'un individu à l'autre, de nombreuses différences inter et intra-individuelles ont ainsi été mises en évidence concernant le relargage des COVs en bouche.

La *salivation* du sujet, de par la composition de la salive et la quantité de salive produite au cours de la dégustation de l'aliment (ratio salive/produit du bol alimentaire) peuvent influencer grandement la libération des COVs (Buettner, 2002a, 2002b; Doyennette, Déléris, *et al.*, 2011; Genovese, Piombino, *et al.*, 2009; Van Ruth, Grossmann, *et al.*, 2001; Van Ruth & Roozen, 2000). Les études ainsi menées ont démontré un effet « salting-in » ou « salting-out » de par les protéines salivaires (mucines, α -amylase, etc.), les sels organiques (NaCl, KCl, NaHCO₃, etc.) ou le ratio de dilution salive/produit sur la libération des COVs en fonction de leur classe chimique et de leur hydrophobicité. En bouche, la mise en contact d'enzymes salivaires avec des précurseurs d'arôme, de type glycoconjugués ou bien S-conjugués à la cystéine, peuvent aussi donner lieu à la libération de composés d'arôme hautement odorants (terpénols ou thiols), (Mayr, Parker, *et al.*, 2014; Parker, Osidacz, *et al.*, 2012; Starkenmann, Le Calvé, *et al.*, 2008).

La *mastication* du sujet par le nombre et la force des mouvements de mâchoires est aussi un facteur d'impact du relargage des composés d'arôme (Arvisenet, Billy, *et al.*, 2006; Buettner & Schieberle, 2000b; Van Ruth & Roozen, 2000). De manière générale, il est noté qu'une mastication soutenue permet de relarguer davantage de COVs qu'une mastication moins énergique, la déstructuration du produit étant plus complète.

La *respiration* du sujet est aussi un vecteur important pour la libération rétronasale des COVs. Les études menées en suivi continu *in vivo* par API ou PTR-MS permettent de distinguer les phases pré- et post-déglutition. Le relargage des composés est plus important dans l'une ou l'autre des deux phases en fonction de l'individu (Frank, Appelqvist, *et al.*, 2011; Gierczynski, Laboure, *et al.*, 2008; Greger & Schieberle, 2007). Et pour un individu donné, ce relargage dans les phases peut être fonction de la matrice alimentaire consommée (Frank, Eyres, *et al.*, 2012).

La *déglutition* du sujet est aussi une phase importante de la dégustation où une grande quantité d'arôme est libérée. D'un point de vue mécanique, la déglutition du bol alimentaire est opérée par action de la langue et du voile du palais. Pendant cette période de transfert du

bol alimentaire dans le pharynx, la respiration du sujet est coupée, aucun transfert d'air n'est opéré entre les cavités orale et nasales. Une fois l'aliment ingéré, une expiration naturelle est immédiatement réalisée libérant une grande quantité d'arôme. Des études ont démontré que le processus de déglutition et le nombre de déglutitions au cours d'une dégustation produit impactaient grandement la libération des COVs (Buettner & Schieberle, 2000a; Ting, Romano, *et al.*, 2016).

La *physiologie orale du sujet avant dégustation* du produit a aussi son importance. Il existe 2 types de physiologies orales, la physiologie orale dite de repos où le sujet n'a été soumis à aucun stimuli oral physique ou chimique, et la physiologie orale dite stimulée où le sujet a été soumis à un produit à mastiquer et/ou à avaler (stimuli physique et chimique). Les travaux d'Engelen, de Wijk, *et al.* (2003) ont ainsi mis en évidence que la stimulation du sujet en amont de la dégustation du produit par une odeur, par mastication d'une matrice non-aromatique (parafilm) ou bien après avoir bu une solution liquide non-aromatique mais contenant des tastants (acide organique) avait un effet non négligeable sur la physiologie orale des sujets. Les stimuli pré-dégustation augmentent la salivation des sujets, impactant ainsi le ratio produit/salive du bol alimentaire, et par conséquent, modifient la libération *in vivo* des COVs.

D'autres facteurs d'impact peuvent également être soulignés (Arvisenet, Billy, *et al.*, 2006; Doyennette, Déléris, *et al.*, 2011; Van Ruth, O'Connor, *et al.*, 2000) :

- Les paramètres physiologiques oraux, tels le volume de la cavité orale ou la dentition du sujet.
- Les paramètres en lien avec le comportement alimentaire, tels que la prise alimentaire (quantité de produit mis en bouche) ou la préparation du bol alimentaire (temps de dégustation, salivation, mastication, respiration).

2.2.2. Les facteurs impactant la perception des composés volatils

La perception aromatique est avant tout dépendante de la nature et de la quantité des COVs détectés par les récepteurs olfactifs. En effet, l'affinité des récepteurs olfactifs pour les molécules volatiles est fonction de la nature physico-chimique de celles-ci. Les récepteurs peuvent se complexer avec plusieurs molécules volatiles spécifiques (Krautwurst, Yau, *et al.*, 1998). Dans le cas de mélanges complexes, les COVs peuvent aussi avoir des effets synergiques ou antagonistes sur d'autres COVs par action sur les récepteurs olfactifs (Sanz, Schlegel, *et al.*, 2005). De plus, une quantité minimale de COVs est requise pour générer un message nerveux suffisant pour détecter et/ou reconnaître une note olfactive ou aromatique. Cette quantité minimale correspond à des seuils de détection et/ou de reconnaissance olfactifs et aromatiques et sont caractéristiques de chaque molécule. La perception des COVs est donc liée aussi aux phénomènes de libération des molécules par voies rétro ou orthonasale.

La physiologie nasale du sujet peut aussi entraîner des variations inter- et intra-individus d'un point de vue perception des COVs. Ainsi, le volume, la forme, le mucus, le nombre et le type de récepteurs olfactifs de la cavité nasale peuvent influencer la sensibilité et les capacités sensorielles des sujets. Il est ainsi noté que les seuils de perception et de reconnaissance des COVs mentionnés dans la littérature sont différents d'une étude à l'autre de par les capacités sensorielles variables des panels.

La perception des COVs est donc liée à la physiologie orale et nasale de l'individu (salivation, mastication, respiration, récepteurs olfactifs, etc.), à la voie de libération des composés d'arôme (voie rétro ou orthonasale).

Des interactions cognitives éventuelles (aspect du produit, saveurs, expérience de l'individu, etc.) peuvent aussi impacter la perception de l'arôme d'un produit. Par exemple, Marsh, Friel, *et al.* (2005) ont étudié l'impact de la saveur acide sur la perception de l'arôme de kiwis. Il apparaît que l'ajout d'acides (ascorbique, malique et quinique), augmente la perception de l'acidité, épuise les notes aromatiques de citron et diminuent les notes aromatiques de banane par rapport à l'arôme original des kiwis. Les saveurs impactent donc la perception aromatique des sujets par interactions cognitives.

2.3. Étude de la libération et de la perception des composés d'arôme pendant la consommation de produits alimentaires

Pour étudier la libération des composés d'arôme par voie rétronasale au cours de la dégustation de produits alimentaires plusieurs approches scientifiques peuvent être envisagées. La stratégie d'étude adoptée dépend avant tout des questions ou objectifs scientifiques visés.

Ainsi, des études *in vivo* et/ou *in vitro* peuvent être menées sur la libération des composés d'arôme, avec des matrices modèles et/ou réelles. Pour cela, un certain nombre d'outils et de méthodes sont disponibles.

2.3.1. Les matrices d'étude

L'utilisation de matrice modèle (matrice de synthèse) est bien souvent indispensable pour traiter de questions de recherche précises ou pour modéliser certains phénomènes. Le tableau ci-contre énumère quelques études menées sur matrice modèle (Tableau 1).

Les composants volatils et non-volatils des matrices modèles sont choisis spécifiquement en fonction des objectifs de recherche. Ainsi la variation du taux de sucres simples, d'acides organiques, d'alcool, de polysaccharides ou encore de lipides permet d'évaluer l'impact des composants non-volatils sur la flaveur d'un produit. De même, le choix des molécules volatiles à ajouter dans la matrice est bien souvent réalisé en fonction de leurs classes chimiques et de leur potentiel odorant ou aromatique en vue de se rapprocher d'une matrice réelle.

L'utilisation de matrices modèles permet également de pallier à certains problèmes rencontrés communément sur matrices réelles dans le domaine des arômes. Ainsi, l'élaboration d'échantillons d'étude à partir de matrices réelles pose toujours le souci de l'homogénéité de la matrice de départ (cas d'un lot de fruits) ou encore de sa stabilité physicochimique (cas des émulsions, produit frais, etc.). La complexité des matrices réelles peut aussi poser soucis dans l'interprétation des résultats avec les interactions possibles de multiples facteurs.

Cependant, l'utilisation de matrices réelles permet de se rapprocher au mieux des conditions réelles de consommation et de prendre le problème dans son ensemble. Les études réalisant des expériences sur matrices réelles doivent se prévaloir des précautions mentionnées précédemment pour pouvoir aboutir.

Tableau 1. Travaux menés sur matrice modèle pour l'étude de la libération ou de la perception de composés volatils.

Matrice modèle			
Matrice réelle visée	Composition	Références bibliographique	
Vin	Mélange [éthanol, eau milli-Q, acide tartrique], pH ajusté avec une solution de NaOH	Mitropoulou, Hatzidimitriou, <i>et al.</i> (2011); Muñoz-González, Rodríguez-Bencomo, <i>et al.</i> (2014)	
Fromage	Lait reconstitué [poudre de caséine et de protéine, lactose, eau milli-Q], NaCl, extrait de levure, solution minérale, starter de culture (<i>Lactococcus lactis</i>), chymosine	Gierczynski, Labouré, <i>et al.</i> (2007); Tarrega, Yven, <i>et al.</i> (2008)	
Fruit	Fruit	Sucrose, texturant, amidon, carragenanes, KCl, CaSO ₄ , eau milli-Q	Savary, Guichard, <i>et al.</i> (2006)
	Fruit	Sucrose, glucose, sirop de maïs, pectine, acide citrique, eau milli-Q	Lubbers & Guichard (2003)
	Kiwi	Sucrose, glucose, fructose, acides malique, citrique, quinique, ascorbique, carboxyméthylcellulose, caséinate de sodium, huile de tournesol désaromatisée, eau milli-Q	Varelis, Zabararas, <i>et al.</i> (2006)
	Abricot	Sucrose, glucose, fructose, sorbitol, acides malique, citrique, pectines, eau milli-Q	Greger & Schieberle (2007)
	Jus d'orange	Sucrose, glucose, fructose, acides citrique, ascorbique, huile de tournesol, lécithine	Buettner & Schieberle (2001)

2.3.2. Approche *in vivo* de la libération des composés d'arôme

L'approche *in vivo* est définie par des expériences menées directement sur des sujets humains. La libération des composés d'arôme est alors mesurée sur un panel de dégustateurs. Les résultats obtenus prennent en compte une variable « individu » incluant des biais pouvant être générés par des différences physiologiques orales intra et inter individus. L'approche *in vivo* permet ainsi de se rapprocher au mieux des conditions réelles de dégustations de produits alimentaires.

a) Méthodes de suivi continu *in vivo*

Les méthodes de suivi continu *in vivo* de la libération des composés d'arôme sur des sujets humains au cours de la dégustation reposent sur la spectrométrie de masse à ionisation douce de type PTR-MS (*proton transfert reaction mass spectrometry*) ou API-MS (*atmospheric pressure ionisation mass spectrometry*), (Figure 2, ci-contre).

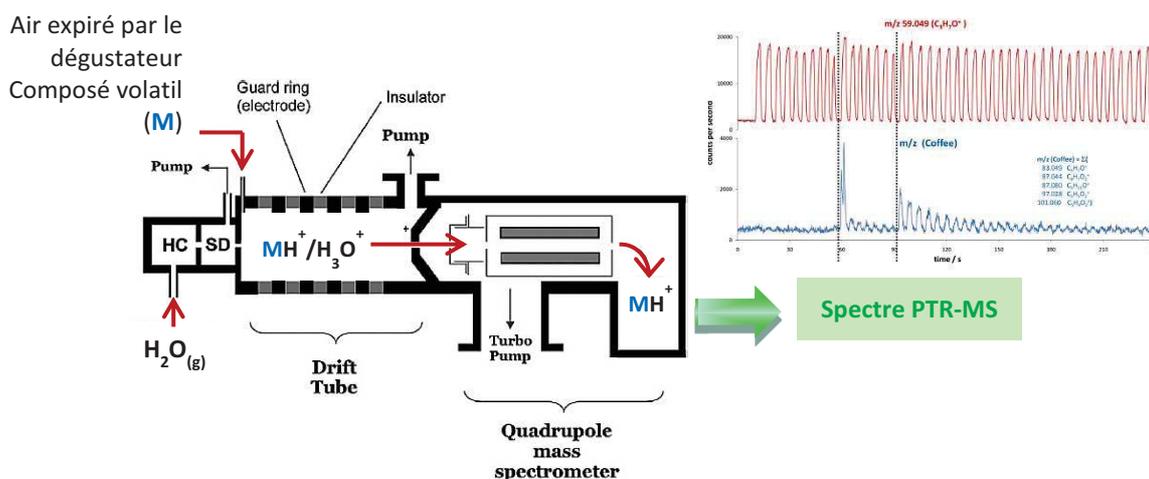


Figure 2. Schéma de la technique PTR-MS utilisée pour le suivi de la libération des composés d'arôme.

Sources : adaptée de Biasioli, Gasperi, *et al.* (2011)

Les composés d'arôme présents dans l'air expiré du sujet par voie rétronasale sont dirigés vers la source du spectromètre de masse où ils sont alors ionisés et protonés par des ions H₃O⁺. L'ionisation douce conduit à la formation d'ions pseudo-moléculaires MH⁺ abondants et stables (où M est la masse molaire du composé) qui sont ensuite sélectionnés par l'analyseur (le plus souvent quadripolaire, PTR-Q-MS) suivant leur m/z avant d'être détectés.

Les méthodes PTR-MS et API-MS permettent de suivre, en temps réel, la libération des composés d'arôme pendant la mastication et d'établir des cinétiques de libération. Ces méthodes très sensibles permettent d'obtenir des résultats à la fois qualitatifs et quantitatifs.

L'inconvénient majeur de ces techniques, outre le coût onéreux des dispositifs, est l'identification des composés au seul moyen des ions pseudo-moléculaires produits et détectés (Heenan, Soukoulis, *et al.*, 2012; Poinot, Arvisenet, *et al.*, 2013). En effet, pour des composés de masse molaire identique (terpène, isomère, etc.), l'ion pseudo-moléculaire produit pour ces molécules est le même, autrement dit, les composés sont difficilement voire non identifiables. Les techniques PTR-MS et API-MS doivent donc être appliquées préférentiellement sur des matrices modèles avec sélection de composés d'arôme de masses moléculaires différentes (Poinot, Arvisenet, *et al.*, 2013).

Toutefois, de constantes améliorations sont apportées pour optimiser ces méthodes de suivi continu. La PTR-MS avec un analyseur à temps de vol (PTR-TOF-MS) permet d'obtenir une précision des ions moléculaires m/z à 4 décimales près (Cappellin, Biasioli, *et al.*, 2010; Heenan, Soukoulis, *et al.*, 2012) contrairement à un analyseur quadripolaire. Ou encore, plus récemment, la PTR-TOF-MS couplée à une Fast-GC (Fast-GC-PTR-TOF-MS) permet d'identifier clairement les composés exhalés de même masse molaire grâce à l'utilisation d'une micro-colonne (analyse GC inférieur à 1 min.) placée en amont du PTR-SM (Materić, Lanza, *et al.*, 2015; Romano, Fischer, *et al.*, 2014). L'identification des composés en temps réel de dégustation s'en trouve alors simplifiée grâce à ces nouvelles techniques.

b) Méthodes de suivi discontinu *in vivo*

La libération des composés d'arôme en cours de dégustation *in vivo* peut être aussi étudiée sur un intervalle de temps donné à l'aide de méthodes de suivi discontinu.

Ces méthodes reposent sur l'extraction des composés d'arôme de l'air expiré par le sujet par voie rétronasale au moyen d'un polymère adsorbant. Les études menées jusqu'ici en suivi discontinu *in vivo* ont utilisé deux techniques de piégeage différentes : la SPME *in vivo* et le RATD.

La SPME *in vivo* a été mise en place et optimisée par E. Pionnier et al. (Pionnier, Chabanet, *et al.*, 2004; Pionnier, Sémon, *et al.*, 2005). Pour cette technique, le paneliste place une de ses fosses nasales sur une canule en plastique. Les COVs relargués au cours de la consommation du produit sont alors dirigés, d'un côté vers un dispositif API-MS, et de l'autre vers une fibre SPME grâce à un dispositif en « T » (Figure 3). Les composés extraits par SPME sont ensuite analysés en GC-MS. Le suivi *in vivo* des COVs aurait pu aussi être réalisé aussi avec la fibre SPME seule.

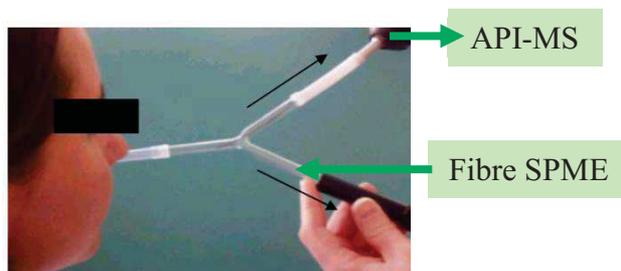


Figure 3. Illustration du dispositif SPME *in vivo*.

Source : extrait de Pionnier (2003)

La technique RATD, quant à elle, est à l'origine de nombreuses études *in vivo* (Buettner & Schieberle, 2000a; Delahunty, Piggott, *et al.*, 1996; Ingham, Linfoth, *et al.*, 1995; Muñoz-González, Rodríguez-Bencomo, *et al.*, 2014), (Figure 4). Celle-ci utilise un polymère adsorbant en grains poreux conditionnés directement en tube d'extraction par le fabricant ou bien à conditionner soit même dans un montage spécifique. Le polymère adsorbant le plus couramment utilisé est le Tenax TA (Oxyde de diphényl-2,6-diène). Tout comme la SPME *in vivo*, le sujet se place sur un port olfactif dans lequel il expire au cours de la dégustation du produit. L'air exhalé par le sujet est aspiré dans le dispositif RATD au moyen d'une pompe où le débit est contrôlé. Les composés d'arôme relargués de la matrice par voie rétronasale sont alors dirigés vers le polymère adsorbant où ils seront piégés. Les composés extraits sont ensuite analysés en GC-MS après thermodésorption ou bien après extraction liquide-solide au solvant.

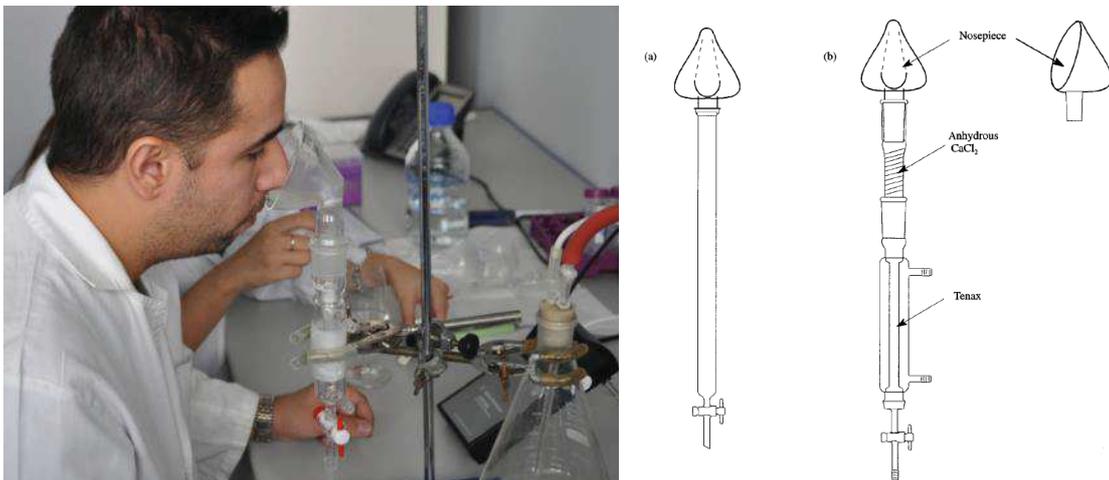


Figure 4. Illustration du dispositif RATD.

Sources : extraits de (a) Muñoz-González, Rodríguez-Bencomo, *et al.* (2014), (b) Buettner & Schieberle (2000a).

Par comparaison avec les méthodes de suivi continu (PTR et API-MS), les méthodes discontinues SPME *in vivo* et RATD :

- permettent d'obtenir aussi des résultats qualitatifs et quantitatifs. Cependant, l'identification des composés ne présente pas d'ambiguïtés grâce aux données GC-MS obtenues. Ces techniques sont donc adaptées à l'étude de matrices aromatiques complexes.

- permettent d'obtenir un suivi global de la libération des composés, mais ne permettent pas d'établir des cinétiques de libération précises. La technique SPME *in vivo* (Pionnier, 2003) permet toutefois de faire un suivi cinétique séquencé avec des extraction SPME successives courtes (<10 sec.).
- sont peu onéreuses. Le matériel nécessaire est bien plus accessible pour les laboratoires de recherche. De plus, ces méthodes restent relativement simples à mettre en place, bien que l'optimisation soit longue.

2.3.3. Approche *in vitro* de la libération des composés d'arôme

À l'inverse des conditions *in vivo*, l'approche *in vitro* est définie par des expériences menées sur des dispositifs simulant, au mieux, une dégustation *in vivo* de produits alimentaires. L'utilisation de « simulateurs » de dégustation permet ainsi de s'affranchir de la variable « individu » et de standardiser la libération des composés d'arôme (pas de différences physiologiques orales intra et inter individus).

a) Approche *in vitro* dynamique

Les simulateurs de dégustation les plus complets adoptent une approche *in vitro* dynamique. C'est-à-dire qu'ils simulent la mastication, la salivation et la respiration d'un sujet humain pour être au plus proche des conditions naturelles de consommation (Arvisenet, Billy, *et al.*, 2008; Benjamin, Silcock, *et al.*, 2012; Salles, Tarrega, *et al.*, 2007), (Figure 5, ci-contre).

Pour cela, la matrice d'intérêt est placée dans une cellule appelée « bouche artificielle ». La salivation est réalisée en introduisant de la salive humaine ou artificielle avec un ratio et/ou un débit contrôlé. Le processus de mastication est imité par compression et/ou cisaillement de l'échantillon à l'aide de dents artificielles et de pistons. Une langue artificielle peut aussi contribuer à imiter le processus de dégustation *in vitro*. La respiration est simulée en introduisant un gaz vecteur inerte dans le dispositif avec un débit contrôlé. La température, et le temps de dégustation *in vitro* sont aussi des paramètres importants qui sont maîtrisés.

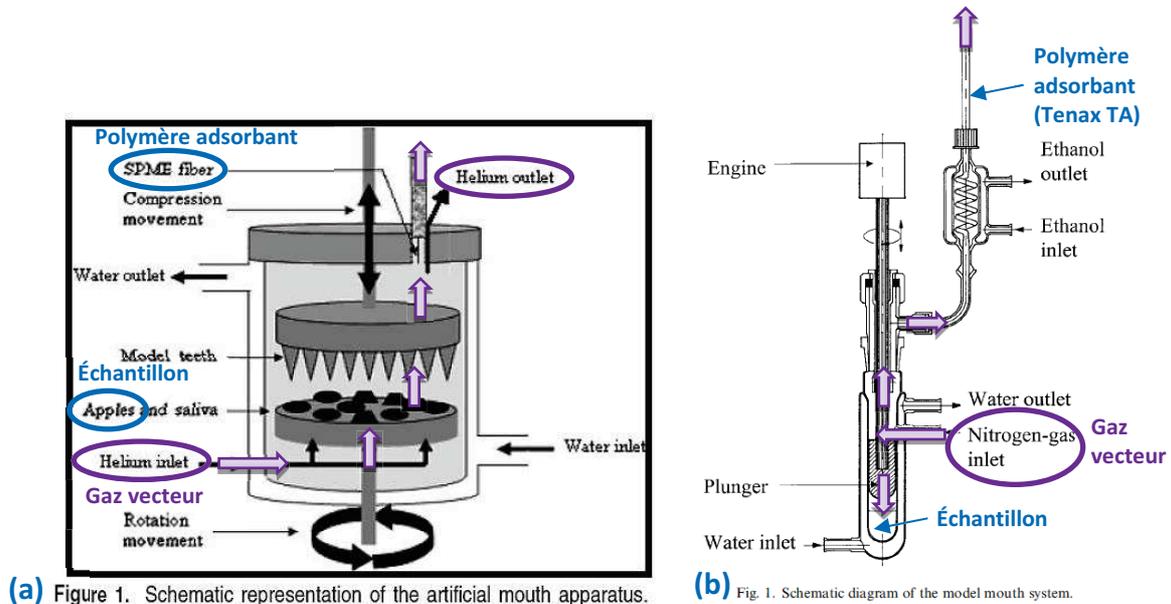


Figure 5. Exemple de simulateurs de mastication.

Sources : extraits de (a) Arvisenet, Billy, *et al.* (2008), (b) Van Ruth & Roozen (2000).

Les composés d'arôme relargués par la matrice au cours de la dégustation *in vitro* sont entraînés par le gaz vecteur à la sortie du simulateur de mastication et peuvent être :

- directement analysés en PTR-MS (Benjamin, Silcock, *et al.*, 2012; Muñoz-González, Sémon, *et al.*, 2015; Van Ruth, Dings, *et al.*, 2004) ou API-MS (Salles, Tarrega, *et al.*, 2007), (suivi continu *in vitro*)
- extraits par un polymère adsorbant de type fibre SPME (Arvisenet, Billy, *et al.*, 2008; Muñoz-González, Feron, *et al.*, 2014), Tenax TA (Arvisenet, Billy, *et al.*, 2006; Rabe, Krings, *et al.*, 2002; Van Ruth, King, *et al.*, 2002; Van Ruth, O'Connor, *et al.*, 2000; Van Ruth & Roozen, 2000) ou autres polymères adsorbants puis analysés en GC-MS (suivi discontinu *in vitro*).

b) Approche *in vitro* statique

Des dispositifs et méthodes plus simples peuvent être menés en *in vitro* pour étudier l'effet de certains facteurs sur la libération des composés d'arôme. Ces techniques sont cependant bien éloignées des conditions réelles de dégustation en bouche.

Ainsi, la technique de l'espace de tête en mode statique par SPME a permis quelques études pour évaluer l'impact de la salive (Muñoz-González, Feron, *et al.*, 2014) ou de

constituant non-volatils de la matrice sur la libération des composés d'arôme (Mitropoulou, Hatzidimitriou, *et al.*, 2011).

2.3.4. Étude de la perception des composés d'arôme

La perception aromatique des composés d'arôme d'un produit est évaluée par analyse sensorielle. L'analyse sensorielle est l'évaluation des propriétés organoleptiques d'un produit par les organes des sens. L'odeur, les saveurs, la texture, les sensations trigéminales ou encore l'arôme des produits sont ainsi évalués avec un panel de sujets humains.

Suivant les questions et objectifs de recherche posés, le choix du test sensoriel (hédonique, descriptifs, discriminatifs, etc.), du protocole de dégustation (nombre de répétitions, ordre de présentation des produits, etc.), et du panel (nombre de sujets, qualification, entraînement, etc.) doivent être bien étudiés.

Dans le cas de l'étude de la perception aromatique d'un produit, les analyses sensorielles conduites utilisent généralement des tests descriptifs avec un panel de sujets qualifiés sachant percevoir, décrire et quantifier divers descripteurs sensoriels. La liste des descripteurs peut être soit imposée aux panélistes, ou bien directement générée par le panel lors de sessions d'entraînement. Les descripteurs sont évalués au moyen d'une échelle de notation.

L'arôme du produit en analyse sensorielle n'est généralement pas évalué seul. En effet, la perception aromatique est souvent le résultat de l'interaction de divers stimuli faisant intervenir les composés aromatiques (nature et quantité), la texture, et les tastants générant les saveurs ou encore les sensations trigéminales.

Au regard de la littérature, il est de plus en plus courant de mener des tests d'analyse sensorielle sur les produits pour compléter les résultats obtenus sur la libération *in vivo* des COVs afin de comprendre au mieux les facteurs influençant le processus de libération et de perception rétronasale.

2.4. Études antérieures menées sur l'impact de la texture des fruits sur la libération et/ou la perception des composés volatils

Peu d'études ont été menées sur des matrices réelles de fruit concernant l'impact de la texture sur la libération et/ou la perception des COVs en condition *in vivo*. Des études sur matrices modèles de fruit ont cependant été réalisées pour comprendre l'impact de facteurs matriciels spécifiques sur la libération et/ou la perception des COVs (taux de pectines, de sucres, texture, etc.).

2.4.1. Impact de la texture sur la libération *in vivo* des COVs

a) Sur matrices réelles

Un certain nombre d'études ont été réalisées sur matrices réelles de fruits concernant la libération des COVs en condition *in vivo* en fonction de la texture des produits.

Frank, Eyres, *et al.* (2012) ont étudié l'impact de la matrice (solide, semi-solide, liquide) de divers produits présentant différents teneurs en acides gras (chocolat, fromage, cacahuète) ou non (orange, carotte) sur la libération des COVs en condition *in vivo*. Les 8 panélistes de l'étude ont été entraînés à suivre un protocole de dégustation précis avec des cycles de respiration standardisés (Frank, Appelqvist, *et al.*, 2011) et un temps de dégustation fixé à 1 min. (30 sec. de phase pré-déglutition et 30 sec. de phase post-déglutition). Cette précaution a permis de limiter en partie les variations liées à la physiologie orale des dégustateurs et de rendre le processus de libération des COVs reproductible pour un panéliste donné. Un suivi cinétique *in vivo* de la libération des COVs a été réalisé en PTR-MS en sélectionnant des ions m/z spécifiques. Dans le cas de l'orange (morceaux, gelée, jus) et de la carotte (morceaux, jus), les auteurs rapportent des tendances de libération *in vivo* des COVs. Pour ce qui est des cinétiques de libération certains panélistes relarguent plus de COVs en pré-déglutition qu'en post-déglutition, et les autres juges montrent la tendance inverse. De plus, pour un juge donné, ce comportement de libération peu changer d'une matrice à l'autre. Des variations inter et intra-individu sont donc notables dans les cinétiques de libération *in vivo* des COVs. Cependant, sur l'ensemble du panel, il apparaît que : toutes les matrices solides libèrent davantage de COVs en *in vivo* en phase pré-déglutition ; aucune différence de phases n'est observée pour les matrices semi-solides ; enfin pour les matrices liquides les COVs sont davantage libérés en *in vivo* en phase post-déglutition. Pour comparer les différentes matrices sur leurs profils de libération, les auteurs

ont exploité les résultats d'AUC (*Area Under the Curve*), c'est-à-dire la quantité totale de COVs libérés sur un intervalle de temps donné. En considérant ainsi les AUC en post-déglutition (Figure 6), la tendance observée est que les matrices plus « rigides » (solide, semi-solide) relarguent davantage d'arôme (somme de tous les COVs) que les matrices homologues aromatiques moins « rigides » (semi-solide, liquide).

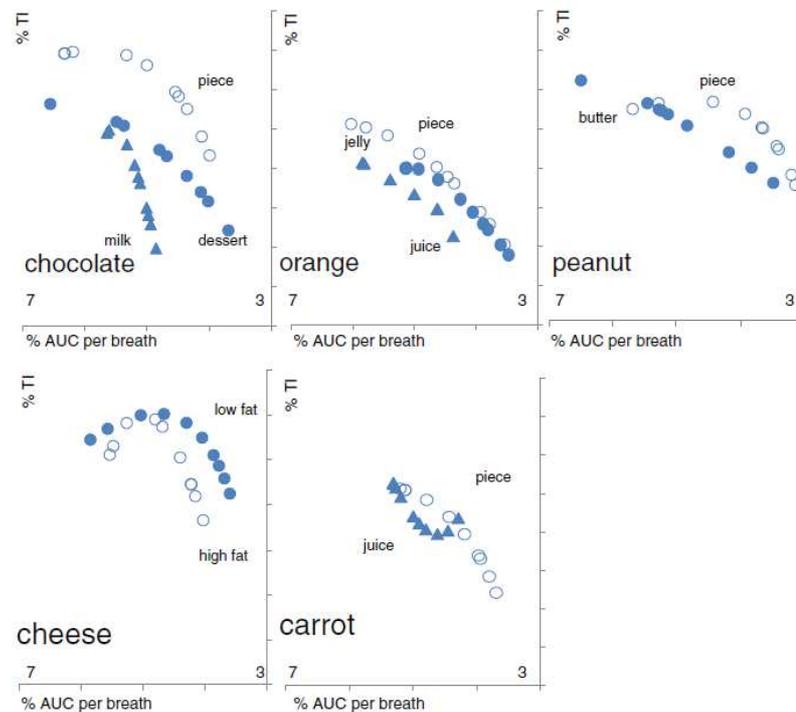


Figure 3. Scatter plots of the relationship between post-swallow volatile release (x-axis, normalized % AUC per breath) and associated change in perceived intensity (y-axis, %). All plots are on the same scale. The x-axis decreases from left to right.

Figure 6. Tendances de libération des composés d'arôme observées sur différentes matrices réelles.

Source : extrait de Frank, Eyres, et al. (2012)

Ainsi, les produits à base d'oranges, comparables d'un point aromatique, relarguent davantage d'arôme en *in vivo* sur morceaux frais, que sur gelée d'orange, eux-mêmes plus que sur jus frais. Dans le même sens, les produits à base de carottes relarguent davantage d'arôme en *in vivo* sur morceaux frais que sur jus frais. Il existerait donc un comportement de libération de l'arôme global du fruit en fonction de la matrice. De plus, les auteurs ont aussi noté que l'ordre d'intensité des COVs relargués pour une matrice donnée est la même pour tous les juges. Des comportements de libération à l'échelle moléculaire seraient donc aussi observables pour chaque matrice : pour l'orange en morceaux et en gelée le butanoate d'éthyle (117 m/z) est plus relargué que l'ensemble des terpènes (81, 95, 137 m/z).

Les travaux de Ting *et al.* (Ting, Romano, *et al.*, 2016; Ting, Soukoulis, *et al.*, 2012) suivent des tendances de libération *in vivo* semblables à celles décrites précédemment. Ces auteurs ont étudié la libération *in vivo* des volatiles sur différents cultivars de pomme présentant des textures (ferme/souple, croquant) et des profils aromatiques différents. L'étude a été réalisée avec 4-5 juges et les dégustations ont été opérées avec des cycles de respiration, mastication, déglutition non imposés mais avec un temps de dégustation limité à 30 sec. maximum. Le suivi *in vivo* des COVs a été réalisé en PTR-MS. Il apparaît que la libération *in vivo* des COVs est plus importante sur les cultivars fermes que sur les cultivars souples. Cette tendance de libération peut être expliquée par l'interaction de deux facteurs :

- le profil aromatique des cultivars fermes est plus riche en composés d'arôme que celui des cultivars souples. En effet, une étude *in vitro* du potentiel aromatique des différentes matrices a été réalisée en amont des expériences *in vivo*. Il apparaît que les cultivars fermes présentent déjà, à la base, de plus grandes teneurs en COVs. La probabilité que ces cultivars relarguent plus de COVs en *in vivo* que les cultivars souples s'en trouve donc renforcée.
- les textures fermes et souples des pommes influencent grandement le comportement de consommation des panélistes. En effet, les panélistes adoptent une mastication plus énergique, plus longue, un plus grand nombre de déglutitions et un temps de consommation plus long sur les cultivars fermes que sur les cultivars souples. La libération des COVs sur cultivars fermes s'en trouve donc facilitée.

Ainsi, pour les travaux de Ting *et al.* (Ting, Romano, *et al.*, 2016; Ting, Soukoulis, *et al.*, 2012), la tendance de libération *in vivo* des COVs en fonction de la matrice des pommes est en partie biaisée par le choix des matrices d'étude qui ne sont pas aromatiquement comparables à la base (contrairement aux travaux de Frank, Eyres, *et al.* (2012)), et par le comportement de dégustation des panélistes.

Les tendances de libération *in vivo* obtenues par Frank, Eyres, *et al.* (2012) et Ting *et al.* (Ting, Romano, *et al.*, 2016; Ting, Soukoulis, *et al.*, 2012) vont à l'inverse de celles obtenues précédemment par Friel, Wang, *et al.* (2007) sur kiwi. Les auteurs ont en effet étudié la libération *in vivo* des COVs sur 2 variétés de kiwi et à 2 stades de maturité différents. Il est bien connu que le stade de maturité des fruits influence grandement la texture et la flaveur du produit. Ainsi, les kiwis « moins matures » sont plus fermes et moins aromatiques que les

kiwis « plus matures » qui sont plus souples et avec un profil aromatique plus riche. La libération *in vivo* des COVs a été observée en APCI-MS sur 2 juges avec un protocole de dégustation non imposé. Cette libération *in vivo* montre que les kiwis souples relarguent davantage de COVs que les kiwis fermes. Ainsi, au regard des travaux menés par Ting *et al.* (Ting, Romano, *et al.*, 2016; Ting, Soukoulis, *et al.*, 2012) et Friel, Wang, *et al.* (2007), il apparaît ainsi que l'hétérogénéité aromatique entre cultivars, ou le degré de maturité des fruits, pourraient avoir un impact bien plus important sur la libération *in vivo* des COVs que l'impact apporté par la texture de la matrice.

b) Sur matrices modèles

Des études sur matrices modèles peuvent également être citées pour comprendre l'impact de certains facteurs sur la libération et/ou la perception des COVs en conditions *in vivo*. Comme vu précédemment, des matrices modèles avec des polysaccharides texturants (pectines, amidon, etc.), des sucres simples (glucose, fructose, sucrose, etc.) et des acides organiques (acides citrique, malique, etc.) sont les matrices les plus utilisées pour simuler la texture et la composition des fruits. Le choix des agents texturant, des sucres et des acides varient d'une étude à l'autre suivant le type de fruit visé.

La majorité des travaux réalisés sur matrice modèle de type fruit se sont penchés sur l'impact de la texture et d'agents texturants sur la libération des COVs (Boland, Delahunty, *et al.*, 2006; Goubet, Le Quere, *et al.*, 1998; Hansson, Giannouli, *et al.*, 2003). Il apparaît ainsi que la nature et la quantité d'agent texturant ainsi que la texture finale du produit influencent grandement la libération des COVs.

Ainsi Boland *et al.* (Boland, Buhr, *et al.*, 2004; Boland, Delahunty, *et al.*, 2006) ont démontré que pour une même quantité de texturant, les gels à base de pectines et d'amidon (gels fermes) libéraient davantage de COVs en dégustation *in vivo* que les gels avec gélatine (gel moins ferme). De plus, l'augmentation de la quantité d'un texturant donné (pectine) dans la matrice induit une augmentation de la rigidité du gel et une meilleure libération *in vivo* des COVs aux regards des résultats AUC et I_{\max} (intensité/concentration maximale de COVs libérés) obtenus par les auteurs. Ces résultats obtenus sur matrice modèle vont dans le sens des tendances de libération *in vivo* observées par Frank, Eyres, *et al.* (2012) et Ting *et al.* (Ting, Romano, *et al.*, 2016; Ting, Soukoulis, *et al.*, 2012) sur matrice réelle en fonction de la fermeté des produits.

À l'inverse, Hansson, Giannouli, *et al.* (2003) ont montré qu'un gel ferme de pectine libérait moins de COVs en *in vivo* qu'un gel visqueux de pectine pour des profils aromatiques pourtant identiques.

Les tendances de libération *in vivo* observées dans ces divers travaux sur matrice modèle varient donc d'une étude à l'autre. L'interaction d'autres facteurs doit donc être envisagée pour expliquer ces différents résultats. Les auteurs ont ainsi émis l'hypothèse que la physiologie orale du dégustateur (salivation, mastication, respiration, déglutition) contribuerait également aux résultats observés.

2.4.1. Impact de la texture sur la perception aromatique des COVs

La perception aromatique d'un produit peut être influencée par une multitude de facteurs. De manière générale, les saveurs, la texture et le profil aromatique de base du produit sont les facteurs qui contribuent le plus à la perception aromatique des aliments. Il est difficile d'étudier l'impact d'un de ces facteurs indépendamment des autres car la perception aromatique est bien souvent la résultante de l'interaction de tous ces facteurs (Tournier, Sulmont-Rossé, *et al.*, 2007). C'est pourquoi, il existe peu d'études qui décrivent l'impact de la texture seul sur la perception aromatique des fruits en présentant des tendances de perception aromatique en fonction de la texture. En effet cette étude n'est possible que si les produits comparés sont identiques sur d'autres critères mise à part la texture. Quelques études peuvent tout de même être présentées sur matrices réelles et modèles.

Sur mangue fraîche, Ledeker, Chambers, *et al.* (2012) ont comparé la perception aromatique de morceaux de mangue (texture solide) avec de la purée de mangue (texture semi-solide) issu d'un lot de fruits homogènes pour différents cultivars. Sur l'ensemble des descripteurs aromatiques, texturant et de saveurs utilisés, il apparaît, suivant les variétés, que les morceaux de mangue frais sont notés plus *visqueux*, *fibreux*, *crayeux* et avec des notes aromatiques plus *fruités*. La purée est notée plus *astringente* et avec des notes aromatiques *végétales* et de *cuit* plus marquées. La texture impacte donc la perception de la saveur globale du produit. Dans le même sens, les travaux Sharma, Kadam, *et al.* (2013) ont mis en évidence que la taille des particules d'un jus de mangue reconstitué à partir de poudres de mangues séchées de différentes granulométries impactait la saveur du jus. Les poudres de mangue avec une granulométrie de 260 µm permettaient d'obtenir un jus reconstitué avec plus de saveur qu'avec des poudres de granulométrie de 296 µm et 191 µm.

Sur matrice modèle de fruit, Boland, Delahunty, *et al.* (2006) ont montré que la perception d'un arôme fraise sur gel peu visqueux de pectine était plus intense que sur gel rigide de pectine. Dans le même temps, ces auteurs ont montré que la libération *in vivo* des COVs de l'arôme fraise en PTR-MS était libéré davantage sur le gel rigide que sur le gel visqueux. Les résultats de libération et de perception des COVs sont donc divergents en fonction de la texture matricielle. D'autres facteurs d'impact doivent donc être impliqués dans les processus de libération et de perception rétronasale. Les auteurs ont émis l'hypothèse que la saveur sucrée, notée plus intense sur gel visqueux, pouvait expliquer en partie les résultats de perception aromatique.

En effet, les saveurs sont des exhausteurs d'arôme. Elles contribuent à percevoir de manière plus ou moins intense certaines notes aromatiques. Ainsi, Malundo, Shewfelt, Ware, *et al.* (2001) ont montré, dans le cas de la mangue, que le taux de fructose et de sucrose dans la matrice influence la perception aromatique des notes fruitées (*pêche, banane, orange*), de légumes (*pomme de terre*), boisées (*pin*) et vertes. Dans le cas de la variation du taux d'acide citrique, c'est la perception des notes aromatiques de *pêche* et de *pin* qui sont influencées. Les travaux menés par Poinot, Arvisenet, *et al.* (2011) démontrent d'autant plus l'importance des saveurs dans la capacité d'un panel d'analyse sensorielle à discriminer des produits. Dans cette étude, différents cultivars de pomme ont été notés suivant leur odeur, saveurs, texture et arôme. Les auteurs ont montré que la flaveur des fruits (ensemble des réponses sensorielles) est en grande partie expliquée par l'impact des saveurs. Autrement dit, que la différenciation des cultivars de pommes est avant tout liée à la contribution des saveurs avant celle de la texture et celle de l'arôme.

L'impact de la texture des fruits sur leur perception aromatique peut donc être étudié sans omettre de prendre quelques précautions quant aux choix des matrices d'étude. En effet, les matrices doivent présenter des textures différentes mais être comparables d'un point de vue composition matricielle (sucres, acides, composés d'arômes, etc.) pour ne pas biaiser les réponses sensorielles et les rendre difficiles d'interprétations.

2.4.2. Conclusion sur les études antérieures et sur la stratégie de l'étude à adopter

a) Des questions en suspens

Au vu des différents travaux menés, il existerait donc un comportement de libération *in vivo* des COVs en fonction de la nature de la texture du fruit. Cependant, quelques interrogations restent cependant en suspens.

Frank, Eyres, *et al.* (2012) ont comparé l'orange en jus, gelée et morceaux, et d'autre part la carotte en jus et morceaux. Les jus ont été obtenus à l'aide d'extracteurs, la pulpe du végétal ne fait donc pas partie de la matrice jus. De plus, la gelée d'orange a été obtenue par ajout de gélatine dans le jus d'orange. Les tendances observées en libération *in vivo* dépendent donc à la fois de la texture de la matrice (fruit, solide/semi-solide/liquide) mais aussi de la composition de cette matrice, les produits d'étude étant tous différents de par la nature de leurs composants.

Ting *et al.* (Ting, Romano, *et al.*, 2016; Ting, Soukoulis, *et al.*, 2012) et Friel, Wang, *et al.* (2007) ont réalisé leurs études sur différentes pommes et kiwis en fonction de leurs variétés ou de leurs degrés de maturité. Les tendances de libération *in vivo* observées dépendent donc à la fois du profil aromatique de base du fruit (celui-ci étant différent pour chaque cultivar et degrés de maturité), de la texture du fruit, des constituant non-volatils (sucres, acides, etc.) et du comportement de dégustation du panéliste (celui-ci n'ayant pas été standardisé dans ces études par des cycles de respiration/mastication imposés). Il est donc difficile de conclure quant à un impact texture des fruits sur la libération des COVs tant les produits sont différents et que la physiologie orale des panélistes est impactante dans l'obtention de ces résultats.

Les études de libération *in vivo* menées sur matrices modèles de fruits sont divergentes quant à l'impact de la texture des produits sur le relargage des COVs, même en considérant des matrices modèles proches (Boland, Buhr, *et al.*, 2004; Boland, Delahunty, *et al.*, 2006; Hansson, Giannouli, *et al.*, 2003).

Il est donc difficile de conclure quant à l'impact de la texture des fruits sur la libération *in vivo* des COVs tant les tendances de libération *in vivo* obtenues jusqu'alors sont la contribution de multiples facteurs autres.

Les travaux menés par Boland, Delahunty, *et al.* (2006) sur matrice modèle de fruit (gels pectiques visqueux/ferme) soulèvent une observation intéressante qui est que l'étude de la libération *in vivo* des COVs ne permet pas de prédire la perception aromatique du produit lors de la dégustation. Il est donc important de réaliser une analyse sensorielle des produits en complément des résultats de libération *in vivo* pour décrire la perception de l'arôme.

Quant aux études menées sur la perception aromatique des fruits en fonction de leur matrice, celles-ci ne permettent pas de conclure quant à des tendances de perception aromatique en fonction de leur texture. En effet, dans la majorité des cas, les matrices d'études ne sont pas homologues dans leur composition matricielle (profil aromatique de base des fruits différents, taux des tastants différents, etc.).

b) Stratégie d'étude à mener et précautions à prendre

La libération et la perception *in vivo* des COVs sont la résultante de multiples facteurs d'impact qu'il est souvent difficile de dissocier. Pour étudier spécifiquement l'impact de la texture sur la libération et la perception *in vivo* des COVs sur matrices réelles de fruits des précautions dans la stratégie d'étude doivent être adoptées :

- Les matrices d'étude doivent avoir des compositions chimiques comparables (taux de sucres, acides, pectines, etc.) et des profils aromatiques identiques (même nature et quantité de COVs) tout en présentant des textures différentes (solide/semi-solide/liquide ou bien ferme/tendre). Il convient donc de constituer des lots de fruits homogènes et d'élaborer les différentes matrices avec pas ou peu de variations chimiques (ajout/ suppression de composants non-volatils).
- L'impact de la physiologie orale des sujets doit être au maximum limité. Les animations visuelles de standardisation des cycles de respiration, du nombre de déglutition et du temps de dégustation proposé par Frank, Eyres, *et al.* (2012) sont déjà une solution à envisager pour limiter les variabilités physiologiques inter et intra-individus.
- La perception aromatique des matrices d'étude doit être évaluée par analyse sensorielle en même temps que la perception de l'odeur, des saveurs et de la texture. En effet, des interactions non négligeables peuvent exister entre ces différents stimuli sensoriels.

2.5. Fruit modèle de l'étude : la mangue

2.5.1. Présentation botanique

La mangue est un fruit tropical issu du manguier, arbre originaire des forêts de l'Asie du sud-est et cultivé en Inde depuis près de 4000 ans (Paull & Duarte, 2011). Cet arbre appartient à la famille des Anacardiaceae, et est répertorié sous le nom scientifique *Mangifera indica* L. d'après la nomenclature linnéenne des végétaux (Figure 7).

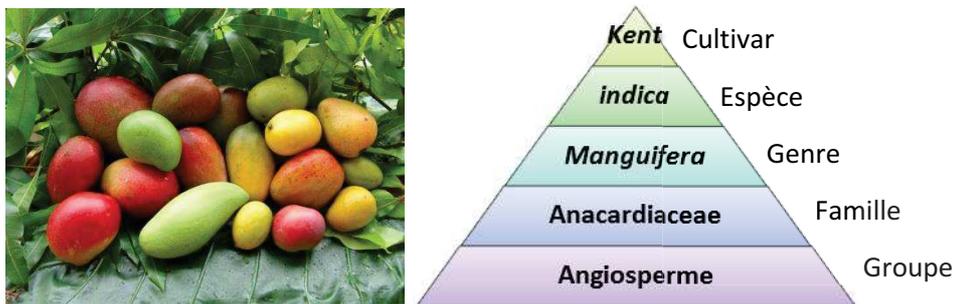


Figure 7. Taxonomie du manguier, exemple du cultivar Kent (*Mangifera indica* L. cv. Kent).

Il existe aujourd'hui plusieurs centaines de variétés de manguiers cultivées à travers le monde, appelées aussi cultivars. Ces derniers, situés dans des zones tropicales et subtropicales, diffèrent de par la morphologie et le cycle de vie de l'arbre (taille, feuilles, floraison, etc.) et de par les fruits produits (quantité, taille, couleur, composition physicochimique, qualités organoleptiques, etc.).

La mangue est un fruit charnu à noyau, appelé aussi drupe, qui présente un exocarpe, un mésocarpe et un endocarpe (Figure 8).

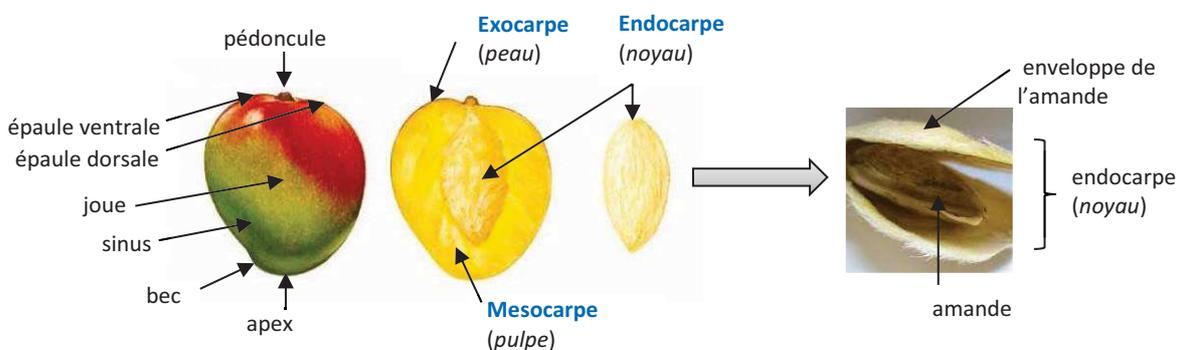


Figure 8. Anatomie du fruit du manguier.

Sources : Paull & Duarte (2011) et Imbert, Loillet, et al. (2014).

L'anatomie et l'apparence du fruit dépend du cultivar mais aussi de son degré de maturité et de maturation. Ainsi, l'exocarpe est épais avec des couleurs pouvant varier du vert au rouge en passant par le jaune et l'orange. Le mésocarpe est plus ou moins épais avec des caractéristiques variables telles que la taille (de 2.5 à plus de 30 cm), la forme (allongée, oblongue, ovale, intermédiaire), la couleur (verte, jaune claire, orange), la flaveur (saveurs, arômes, etc.), la présence de fibres plus ou moins importantes, etc. L'endocarpe est plus ou moins plat, large et entouré de fibres qui se prolongent dans le mésocarpe.

La mangue est un fruit tropical dit climactérique comme l'avocat, la banane, l'abricot, le kiwi, etc. Les fruits climactériques se distinguent des fruits non climactériques (cas du litchi, cerise et ananas par exemple) par le fait qu'ils produisent naturellement de l'éthylène, une hormone végétale importante dans le cycle de vie des fruits. La figure ci-dessous (Figure 9), illustre le cycle de vie du fruit de mangue incluant ses différentes étapes physiologiques (développement et croissance du fruit).

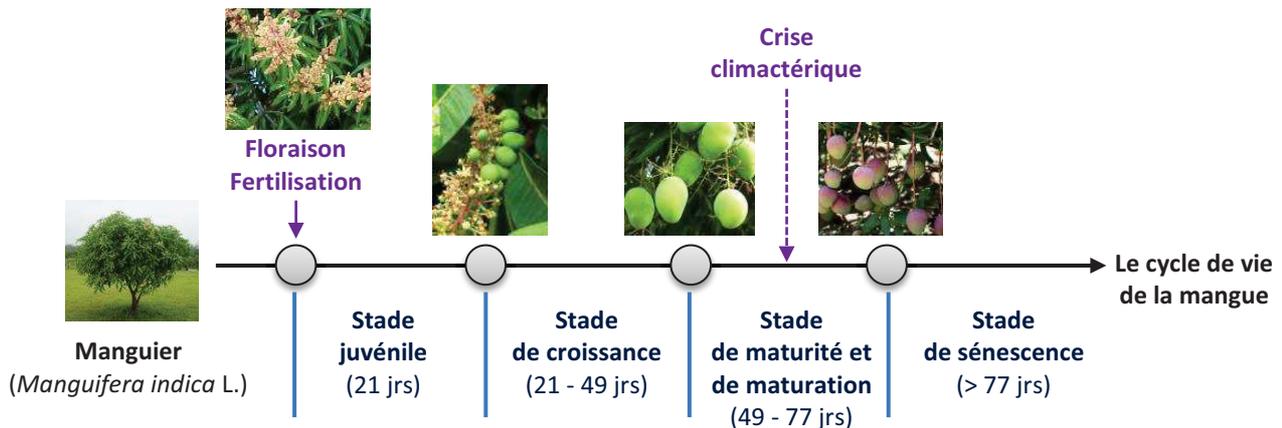


Figure 9. Le cycle de vie du fruit du manguier.

Source : Tharanathan, Yashoda, et al. (2006)

Le cycle de vie de la mangue se distingue en 4 étapes physiologiques (Tharanathan, Yashoda, et al., 2006) :

- Le *stade juvénile* (environ 3 à 4 semaines après fertilisation de la fleur) est le 1^{er} stade de développement du fruit, défini par une multiplication cellulaire rapide et importante.

- Le *stade de croissance* (environ 4 à 5 semaines) correspond à la mise en place et au grossissement des cellules pour tendre vers l'anatomie de maturité du fruit.
- Le *stade de maturité et de maturation* (environ 4 à 5 semaines) se définit par l'acquisition de la maturité du fruit (stade du fruit vert mature) et par l'initiation de la maturation du fruit, c'est-à-dire, du passage du fruit vert mature au stade de fruit mûr. Cette période est caractérisée par une forte production d'éthylène, appelée crise climactérique, entraînant une augmentation de la respiration cellulaire et le changement de nombreux paramètres biochimiques, tel que, l'hydrolyse de l'amidon en sucres simples, la diminution de l'acidité, la dégradation des pectines (diminution de la fermeté) et le développement de l'arôme du fruit (Pech, Purgatto, *et al.*, 2012).
- Le *stade de sénescence* (à environ 11 à 12 semaines après fertilisation de la fleur) correspond à l'acquisition de la pleine maturité du fruit (fruit mûr, bon à consommer, qualités organoleptiques optimales) jusqu'à sa détérioration (dégénérescence cellulaire, dégradation enzymatique des tissus végétaux, etc.).

Les fruits climactériques, tels que la mangue, peuvent ainsi effectuer leur maturation sur ou en dehors de l'arbre après acquisition de la maturité, ce qui n'est pas le cas des fruits non-climactériques qui atteignent leur maturation sur l'arbre pour être consommables.

2.5.2. Production et consommation

a) Les pays producteurs et importateurs

La production mondiale de mangue s'élève à plus de 30 millions de tonnes par an, ce qui en fait le 2^{ème} fruit tropical le plus produit au monde après la banane³. La mangue est principalement produite en Asie (Inde, Chine, Indonésie, Thaïlande, Pakistan), puis en Amérique latine (Mexique, Brésil) et en Afrique (Nigéria, Égypte). Les premiers pays importateurs⁴ de mangues sont les États-Unis suivis des Pays-Bas, puis de l'Allemagne, du Royaume-Uni et de la France.

³ Site officiel FAO (Food and Agriculture Organization), FAOSTAT, <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>

⁴ Site officiel FAO (Food and Agriculture Organization), FAOSTAT, <http://faostat.fao.org/site/342/default.aspx>

b) Les principales variétés de mangues consommées à travers le monde

Les variétés de mangue les plus produites et consommées à travers le monde sont la *Tommy Atkins*, la *Kent*, la *Keitt*, l'*Osteen*, l'*Haden*, et la *Valencia Pride* (Imbert, Loeillet, *et al.*, 2014).

Sur les marchés européens, la variété *Kent* suivie de la *Tommy Atkins* et de la *Keitt* sont les variétés que l'on peut rencontrer le plus communément. Elles sont disponibles sur une grande partie de l'année et en quantité sur nos marchés. Suivant la saison et les marques distributeurs, la variété de mangue, l'origine géographique des fruits et le mode de transport (avion ou bateau) peuvent varier.

c) Valorisation et consommation

La mangue est un fruit valorisé et décliné en de nombreux produits. Suivant les pays, les pratiques culturelles et culinaires, la mangue peut s'utiliser ou se consommer à l'état de fruit vert mature ou bien de fruit mûr, sous forme de produits bruts ou bien transformés.

Au stade de fruit vert mature, la mangue peut être utilisée pour la confection de sauce (chutney, saumures), de boisson (panna) ou de produits transformés divers (mangues séchées, confites, salées, en poudre type amchoor), (Masibo & He, 2009). Au stade de fruit mûr, la mangue est principalement consommée en tant que fruit frais. La pulpe peut être aussi transformée et valorisée en de nombreux produits tels que des jus, nectars, confitures, compotes, fruits au sirop, séchés, congelés, caramélisés, etc.

Outre la chaire du fruit, la peau, le noyau et les feuilles du fruit du manguier sont aussi utilisés et valorisés. Les composés bioactifs, présents en grande quantité dans la peau (composés phénoliques, caroténoïdes, pectines, fibres), peuvent être extraits et réutilisés comme ingrédients en industrie agroalimentaire (Berardini, Knödler, *et al.*, 2005; Masibo & He, 2009). À partir du noyau de mangue, un « beurre de mangue » riche en acides gras et en composés antioxydants peut être extrait et utilisé en industrie cosmétique (Kittiphoom, 2012). Les feuilles, également riches en composés bioactifs, sont utilisées pour concocter des extraits appliqués en médecine traditionnelle en Asie (Masibo & He, 2009).

2.5.3. Composition et caractéristiques physicochimiques

a) Composition chimique et nutritionnelle

La composition de la mangue dépend de nombreux facteurs tels que le cultivar considéré, les origines géographiques et géologiques, le climat, le stade de maturité et de maturation, les conditions de stockage, etc. (Litz, 2009; Masibo & He, 2009; Tharanathan, Yashoda, *et al.*, 2006).

La mangue est constituée à 60-75 % de pulpe, 11-18 % de peau et de 14-22 % de noyau (Paull & Duarte, 2011). Le tableau ci-contre (Tableau 2) présente la composition du fruit pour la pulpe de mangue fraîche. Les données présentées dans ce tableau restent indicatives (USDA, National Nutrient Database for Standard Reference, 2016, Réf. 09176).

La pulpe est constituée d'environ 80 % d'eau et de 20 % d'extrait sec soluble. Sa composition en fait un fruit intéressant de par sa teneur en fibres, en minéraux, en vitamine A, en provitamine A (β -carotène) et en vitamine C (Masibo & He, 2009).

En comparaison avec d'autres fruits⁵, la mangue est un fruit moyennement calorique (0.60 kcal/g) au même titre que le kiwi, la pomme, la myrtille ou la poire (0.61-0.57 kcal/g). Elle présente un apport en vitamines A et en provitamine A (0.54 μ g RAE/g ; β -carotène 6.4 μ g/g) inférieur à l'abricot (0.96 μ g RAE/g ; β -carotène 10.94 μ g/g), mais bien supérieur à l'orange, le kiwi ou encore l'ananas (0.03-0.11 μ g RAE/g ; β -carotène 0.35-0.71 μ g/g). En revanche son apport en vitamine C (0.364 mg/g) est supérieur à l'abricot (0.10 mg/g) mais inférieur à l'orange, l'ananas et le kiwi (0.532-0.927 mg/g).

⁵USDA, National Nutrient Database for Standard Reference (2016)

Tableau 2. Composition chimique de la pulpe de mangue fraîche.

Source: USDA, National Nutrient Database for Standard Reference (2016).

Constituant	Teneur pour 100g de pulpe fraîche*
Eau	83.46 g
Calories	60 kcal (ou 250 kJ)
Protéines	0.82 g
Lipides	0.38 g
<i>dont saturés (0.092 g), monoinsaturés (0.14 g), polyinsaturés (0.071 g)</i>	
Cendre	0.36 g
Carbohydrates	14.98 g
Fibres	1.6 g
Sucres totaux	13.66 g
<i>dont sucrose (6.97 g), glucose (2.01 g), fructose (4.68 g)</i>	
Minéraux	205.02mg
<i>dont Ca (1 mg), Fe (0.16 mg), Mg (10 mg), P (14 mg), K (168 mg), Na (1 mg), Zn (0.09 mg), Cu (0.111 mg), Mn (0.063 mg), Se (0.6 µg)</i>	
Vitamines	
<i>Vitamine A</i>	1082 IU (ou 54 µg RAE)
<i>Thiamine (B1)</i>	0.028 mg
<i>Riboflavine (B2)</i>	0.038 mg
<i>Niacine (B3)</i>	0.669 mg
<i>Acide Pantothénique (B5)</i>	0.197 mg
<i>Pyridoxine (B6)</i>	0.119 mg
<i>Vitamine C (acide ascorbique)</i>	36.4 mg
<i>Vitamine E (α-tocophérol)</i>	0.9 mg
<i>Vitamine K (phylloquinone)</i>	4.2 µg
<i>β-carotène</i>	640 µg
<i>α-carotène</i>	9 µg
<i>β-cryptoxanthine</i>	10 µg
<i>Lycopène</i>	3 µg
<i>Lutéine et zéaxanthine</i>	23 µg
<i>Folate, total</i>	43 µg
<i>Choline, total</i>	7.6 mg
Acides aminés	0.676 g
<i>dont Tryptophane (0.013 g), Thréonine (0.031 g), Isoleucine (0.029 g), Leucine (0.05 g), Lysine (0.066 g), Méthionine (0.008 g), Phénylalanine (0.027 g), Tyrosine (0.016 g), Valine (0.042 g), Arginine (0.031 g), Histidine (0.019 g), Alanine (0.082 g), Acide aspartique (0.068 g), Acide glutamique (0.096 g), Glycine (0.034 g), Proline (0.029 g), Sérine (0.035 g)</i>	

* Valeurs moyennes obtenues pour les cultivars Tommy Atkins, Keitt, Kent, et Haden
 IU, international unit
 RAE, retinol activity equivalents

b) Suivi de la qualité des fruits et mesures physicochimiques au cours de la maturité et de la maturation

Des mesures physicochimiques sont réalisées tout au long de la chaîne de production des fruits, des zones agricoles jusqu'aux points de vente et de transformation, pour s'assurer de la bonne qualité des mangues.

L'évaluation de la qualité des mangues est particulièrement importante au moment :

- de la *récolte des mangues*, afin de s'assurer qu'elles soient assez mures pour pouvoir développer tout leur potentiel organoleptique (couleur, arômes, saveurs) lors de la maturation. En effet, au cours du stade de maturité et de maturation, les fruits doivent être cueillis, au minima, au stade vert mature. Le degré de maturation des fruits, en revanche, peut être variable suivant leur devenir : vente des fruits frais sur le marché local, exportation des fruits frais par bateau ou par avion, transformation des fruits en produits industriels.
- de la *transformation des mangues* en produits industriels (jus, nectars, confitures, fruits séchés, salades de fruits, etc.). En effet, les industries agroalimentaires se doivent de constituer des lots de fruits homogènes et à des niveaux de maturation spécifiques pour s'assurer de la bonne fabrication de leur produits transformés.

Actuellement, le stade de maturité et de maturation des mangues est bien souvent évalué par mesures empiriques telles que l'appréciation de la couleur du fruit, de son anatomie (forme, taille, densité, remplissage du fruit), de sa fermeté au toucher (palpation du fruit) et de son âge physiologique (nombre de jour après floraison).

Avec les avancées scientifiques actuelles, quelques outils et mesures physicochimiques sont proposés pour décrire au mieux le niveau de maturité et de maturation des mangues et de s'assurer de la qualité des produits de fruits. Ces méthodes sont décrites ci-après.

i) *La fermeté des fruits*

La mesure de la fermeté est souvent utilisée en agronomie pour évaluer le niveau de maturité et de maturation des fruits.

Des mesures non-destructives de la fermeté sur les fruits peuvent être réalisées à l'aide de duromètres manuels ou bien statiques (Camps & Christen, 2009; Jarimopas & Kitthawee, 2007; Valente, Ribeyre, *et al.*, 2011; Valero, Crisosto, *et al.*, 2007) ou encore avec des

appareils de mesures acoustiques (Ito & Sugiyama, 2000; Valente & Ferrandis, 2003; Valente, Prades, *et al.*, 2013; Valente, Ribeyre, *et al.*, 2011).

Des mesures destructives peuvent également être réalisées pour évaluer la fermeté des fruits à l'aide de pénétromètres (S. K. Jha, Sethi, *et al.*, 2010; Valente, Ribeyre, *et al.*, 2011).

La spectrométrie proche infrarouge (NIRS, near-infrared spectrometry) permet également d'établir des relations entre certains paramètres physicochimiques du fruit (la fermeté, l'extrait sec soluble et l'acidité) et son état physiologique en terme de maturité et de maturation (Camps & Christen, 2009; S. N. Jha, Jaiswal, *et al.*, 2012; S. N. Jha, Narsaiah, *et al.*, 2014; Schmilovitch, Mizrach, *et al.*, 2000).

ii) La couleur de la pulpe et de la peau

La couleur de la peau du fruit (S. N. Jha, Chopra, *et al.*, 2007; S. N. Jha, Kingsly, *et al.*, 2006) ou bien la couleur de la chair (Dick, N'DaAdopo, *et al.*, 2009; Phakawatmongkol, Ketsa, *et al.*, 2004) peuvent renseigner sur la qualité et sur l'homogénéité d'un lot de fruit. Les mesures sont réalisées à l'aide d'un colorimètre ou bien d'une échelle colorimétrique de référence.

iii) L'extrait sec soluble et l'acidité

Comme énoncée précédemment, la spectrométrie proche infrarouge (NIRS) permet de corréler le taux d'extrait sec soluble et l'acidité titrable (AT) avec le niveau de maturité et de maturation du fruit. De façon conventionnelle, l'extrait sec soluble est mesuré à partir d'un réfractomètre (exprimé en °Bx) et l'AT avec un titrateur de pH et une solution titrante (exprimé en milli-équivalent d'acide organique majoritaire).

iv) Les mesures standard réalisées sur produits de mangue

De manière générale, pour décrire un lot de mangues ou des produits de mangue, les mesures physicochimiques réalisées sont destructives et sont menées après échantillonnage des fruits. Les paramètres physicochimiques les plus couramment décrits sont :

- l'extrait sec soluble (exprimé en °Bx), au moyen d'un réfractomètre.
- l'acidité, par mesure de pH et de l'acidité titrable (AT, exprimée en méq d'acide) à l'aide d'un titrateur de pH et d'une solution titrante.

- la couleur de la pulpe, au moyen d'un colorimètre ou d'une échelle colorimétrique de référence (exprimée dans le système CIE XYZ ou L*a*b*).
- la matière sèche (MS, exprimée en %), établie après déshydratation du produit en étude. La procédure expérimentale de référence souvent reprise pour déterminer la MS est celle de l'AOAC réf. 934.06/37.1.10 (AOAC, Association of Official Analytical Chemists International).
- l'activité de l'eau, au moyen d'un a_w-mètre (exprimée sans unité).

2.5.4. Profil aromatique

a) Les composés volatils

Le profil aromatique de la mangue est riche et complexe de par la présence de nombreuses familles chimiques. De manière générale, pour la majorité des cultivars, les composés terpéniques, les monoterpènes et les sesquiterpènes, constituent la classe chimique majoritaire. D'autres classes chimiques telles que les lactones, les esters, les alcools les aldéhydes, les cétones, les acides carboxylique, les furanes, et plus récemment des composés soufrés, ont également été identifiés dans les différents cultivars répertoriés à travers le monde. Ces nombreux composés d'arôme, de par leur classe chimique et leur teneur dans le fruit, confèrent à chaque cultivar sa particularité aromatique. La figure ci-contre (Figure 10), présente le profil aromatique de quelques variétés principales de mangue produites à travers le monde.

Le Tableau 3 ci-contre (p 42) énumère, de manière non-exhaustive, les composés d'arôme principaux que l'on peut rencontrer communément dans un grand nombre de cultivars de mangue.

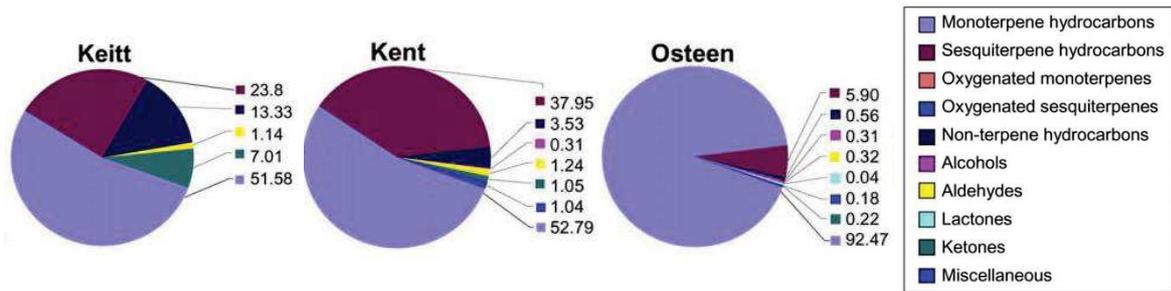


Figure 10. Profil aromatique de variétés de mangues principalement produites à travers le monde (en % de composés volatils par classes chimiques).

Source : extrait de Pandit, Chidley, et al. (2009).

Les études menées en chromatographie gazeuse couplée à l'olfactométrie (GC-O), ont permis de mettre en évidence des composés d'arôme susceptibles d'impacter l'arôme de mangue dans différents cultivars. Ces composés clés sont également présentés, de manière non-exhaustive (Tableau 3, ci-contre). Ces derniers présentent un FD (*flavour dilution factor* ou facteur de dilution) important et/ou une OAV (*Odour Activity Value* ou nombre d'unité d'odeur) supérieure à 1.

Les composés d'arôme du profil aromatique de la mangue apportent les notes suivantes (Munafo, Didzbalis, et al., 2014; Pino, 2012; Pino & Mesa, 2006) :

- des notes *vertes, terpéniques, boisées et citrus* dans le cas des monoterpènes δ -3-carène, limonène, β -myrcène, terpinolène, (*Z*)- et (*E*)- β -ocimène et du sesquiterpène β -caryophyllène.
- des notes *florales*, pour ce qui est des terpènes oxygénés linalol, (*E*)- β -damascénone et (*E*)- β -ionone et de l'alcool 2-phenyléthanol.
- des notes *fruitées*, grâce aux hydrocarbures non-terpéniques (*E,Z*)-undeca-1,3,5-triène et (*E,Z,Z*)-undeca-1,3,5,8-tetraène et aux esters 2-méthylpropanoate d'éthyle, 2-méthylbutanoate d'éthyle et 3-méthylbutanoate d'éthyle et butanoate d'éthyle
- des notes *vertes et grasses*, dans le cas des aldéhydes (*E*)-3-hexénal ; (*Z*)-3-hexénal ; (*E*)-2-nonénal ; (*E,Z*)-nona-2,6-diéнал).
- des notes de *foin* (3-méthylbutane-2,4-dione), de *noix de coco* (γ -octalactone et δ -octalactone), de *caramel* (MDMF, HDMF et) ou de *pomme de terre* (3-(méthylthio)propanal).

- ou encore des notes déplaisantes de type *terreuses* (2,3-diéthyl-5-méthylpyrazine), *rances* (acide benzoïque, acides 2- & 3-méthylbutanoïque) ou bien *soufrées* (3-méthylbut-2-ène-1-thiol).

Tableau 3. Les composés d'arôme principaux et communs de la mangue.

Sources : Pino & Mesa (2006), Pino (2012), Munafo, Didzbalis, et al. (2014), Pandit, Chidley, et al. (2009), Pino (2012), bases de données internet (Flavornet, Pherobase, The LRI and Odour Database).

Famille	Composé	OT ^a (ppb)	Notes olfactives	OAV ^b	FD ^c
Monoterpènes	δ-3-carène	5-770	Résineuse, citron, orange	5-80	128
	β-pinène	140	Boisée, résineuse, terpénique		
	α-pinène	6	Pin, térébenthine	13	
	Limonène	210-1000	Verte, citron, orange	1-47	128
	β-myrcène	15-36	Terpénique, résineuse, balsamique	25-28	64-128
	Terpinolène	200	Pin, boisée, anisée	1-230	512
	α-phellandrène	40	Térébenthine, verte, citron	40	
	(Z)-β-ocimène		Terpénique, citrus		512
	(E)-β-ocimène	34	Terpénique, verte		128
	p-cymène	11,4	Chimique, citrus	5	
Sesquiterpènes	β-caryophyllène	64	Boisée, épicée, terpénique	2-72	64
	α-caryophyllène	160	Boisée, grasse		
Monoterpènes oxygénés	Linalol	6	Florale, citron	15	64
	Géranyl acétone	60	Florale, verte	2	
Norisoprenoïdes	(E)-β-damascènone	0.002-10	Fruitée, florale, douce	2-5000	1024
	(E)-β-ionone	0.007-0.2	Florale, violette	450-2512	256-512
Hydrocarbures non-terpéniques	(E,Z)-undeca-1,3,5-triène		Ananas, épicé		512
	(E,Z,Z)-undeca-1,3,5,8-tetraène		Ananas		512
Esters	propanoate d'éthyle	10	Fruitée	126	
	butanoate d'éthyle	1	Fruitée	4000	1024-2048
	hexanoate d'éthyle		Fruitée		32
	octanoate d'éthyle		Fruitée		32
	2-méthylpropanoate d'éthyle	0,1	Fruitée	800	512
	2-méthylbutanoate d'éthyle	0,2	Fruitée	50	128-512
	3-méthylbutanoate d'éthyle		Fruitée		2048
	benzoate de méthyle	0.52-73	Florale	4-20	32
Alcools	1-pent-3-énol	400	Beurre, rance	10	
	2-phenyléthanol	1100	Florale, rose		128
Aldéhydes	hexanal	4,5	Verte, grasse	42-16	32
	heptanal	3	Verte, grasse, rance	6	
	nonanal	1	Verte, grasse, florale	10-20	32
	(E)-hex-2-énal	17	Verte, pomme	4	
	(E)-hex-3-énal		Verte		512
	(Z)-hex-3-énal		Verte		128

	(<i>E</i>)-hept-2-éнал	13	Grasse, amande	3	
	(<i>E</i>)-non-2-éнал	0,08	Grasse, verte, concombre	750 - 1259	128-512
	(<i>E,Z</i>)-nona-2,6-diéнал	0.01-0.02	Grasse, verte, concombre	1000-31623	128-1024
Cétones	butane-2,3-dione		Beurrée, fruitée		32
	3-méthylbutane-2,4-dione		Foin		128
Acides carboxyliques	acide acétique		Vinaigre		32
	acide benzoïque		Rance, urine		128
	acide 2- & 3-méthylbutanoïque		Rance		128
Lactones	γ -octalactone	7	Noix de coco	3-13	32-512
	δ -octalactone	400	Noix de coco		512
Furanes	4-méthoxy-2,5-diméthyl-3(2H)-furanone (MDMF, mésifurane)	160	Caramel, vin de xérès	3	32-128
	4-hydroxy-2,5-diméthyl-3(2H)-furanone (HDMF, furanéol)		Caramel		2048
	2,3-diéthyl-5-méthylpyrazine		Terreuse		128
Composés soufrés	(<i>E</i>)-but-2-ène-1-thiol		Souffrée		32
	3-méthylbut-2-ène-1-thiol		Souffrée		128
	3-(méthylthio)propanal		Pomme de terre cuite		512

Légende :

^aOT (odour threshold), les seuils de détection olfactifs des composés d'arôme dans l'eau (en $\mu\text{g}/\text{kg}$) relevés dans la littérature.

^bOAV (odour activity value), nombre d'unité d'odeur des composés d'arôme (sans unité) relevés dans la littérature.

^cFD (flavour dilution factor), les facteur de dilution des composés d'arôme (sans unité) relevés dans la littérature.

b) Formation et synthèse des composés d'arôme de mangue

Après initiation de la maturation (après crise climactérique), le fruit développe ses propriétés organoleptiques telles que l'arôme, les saveurs acide et sucrée (Tharanathan, Yashoda, *et al.*, 2006). Le développement de l'arôme s'accompagne de la production de bon nombre de composés d'arôme. Ces composés sont générés soit par voies métaboliques, soit par dégradation de précurseurs d'arôme.

Les terpènes, classe chimique majoritaire de l'arôme de mangue, sont produits à partir de la voie mévalonique (voie de l'Acétyl coenzyme A) et de la voie du déoxyxylulose phosphate (Dubey, Bhalla, *et al.*, 2003). Ces voies métaboliques conduisent à la synthèse de l'isopentényle pyrophosphate (IPP). La condensation de l'IPP avec le DMAP (diméthylallyle pyrophosphate) issu de la même voie métabolique conduit au GPP (géranyle pyrophosphate).

Les monoterpènes sont formés par transformation du GPP. Quant aux sesquiterpènes, ils sont synthétisés suite à la condensation du GPP avec l'IPP.

Les alcools, les cétones et les aldéhydes sont issus du métabolisme des lipides (Belitz, Grosch, *et al.*, 2009b; Lalel, Singh, *et al.*, 2003a). Ainsi, les aldéhydes de la mangue tels l'hexanal, (*Z*)- et (*E*)-hex-3-éanal, (*E*)-hept-2-éanal (*E*)-non-2-éanal, ou le (*E,Z*)-nona-2,6-diéanal sont produits à partir des acides linoléique et linoléïque par la voie de la lipoxygénase ou encore, l'heptanal, l'octanal et le nonanal par dégradation de l'acide oléique.

D'autres précurseurs d'arôme de la mangue peuvent être aussi cités :

- les *caroténoïdes* (Baldermann, Naim, *et al.*, 2005); la β -ionone peut être ainsi générée à partir du β -carotène par clivage oxydatif (Kanasawud & Crouzet, 1990) ou bien par action d'enzyme telle la β -carotène oxygénase (Baldermann, Naim, *et al.*, 2005; Fleischmann, Watanabe, *et al.*, 2003) .

- les *composés glycosylés* ou *hétérosides* ; le 2-phényléthanol (Adedeji, Hartman, *et al.*, 1992; Lalel, Singh, *et al.*, 2003c; Olle, Baumes, *et al.*, 1998), le furanéol (Sakho, Chassagne, *et al.*, 1997), l'acide benzoïque (Adedeji, Hartman, *et al.*, 1992) ou encore des composés typiques de certains cultivars comme le (*Z*)-3-hexène-1-ol ou des γ -lactones (Lalel, Singh, *et al.*, 2003c) ont été détectés sous forme glycoconjuguée dans la mangue. L'hydrolyse acide ou enzymatique de ces précurseurs d'arôme glycosylés permet de libérer la partie volatile (Sakho, Chassagne, *et al.*, 1997)

c) Variabilités aromatiques multi-facteurs

De nombreux facteurs peuvent influencer le profil aromatique de la mangue tant d'un point de vue qualitatif que quantitatif (Figure 11, ci-contre).

En premier lieu, la variabilité aromatique de la mangue provient du type de manguier considéré, c'est-à-dire de sa variété et de son patrimoine génétique (Pandit, Chidley, *et al.*, 2009; Pino, Mesa, *et al.*, 2005) de son origine géographique, et des conditions environnementales (climat, type de sol, altitude, etc.) qui l'entourent (Kulkarni, Chidley, *et al.*, 2012).

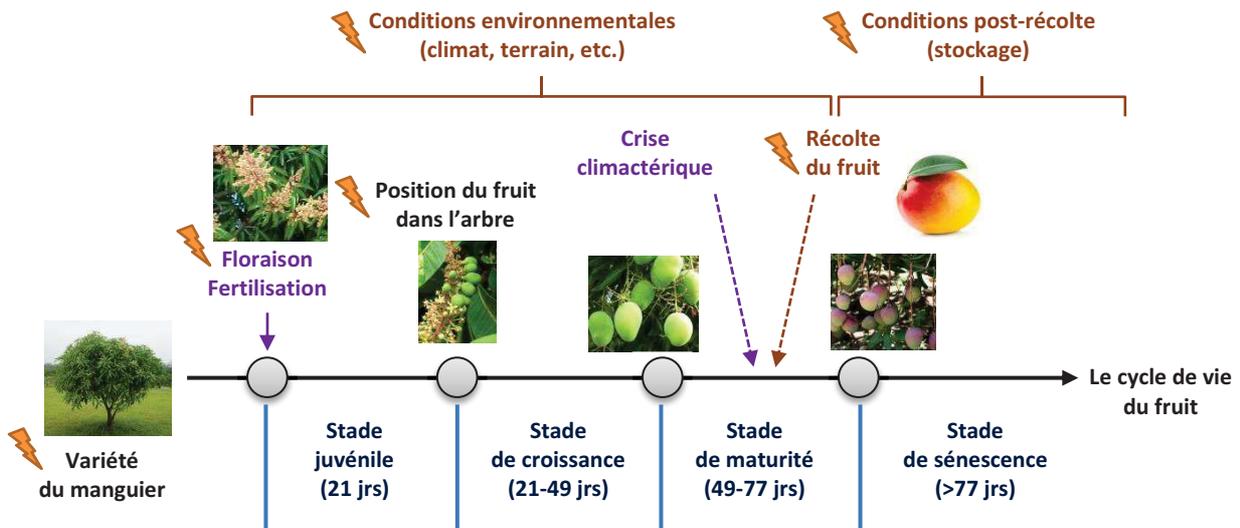


Figure 11. Les facteurs d'impact de la variabilité aromatique de la mangue.

Le stade physiologique du fruit impacte aussi grandement le profil aromatique de la mangue. Ainsi, le stade de maturité du fruit à la récolte (Pandit, Kulkarni, *et al.*, 2009) et le stade de maturation du fruit en post-récolte (Lalel, Singh, *et al.*, 2003a; Lebrun, Plotto, *et al.*, 2008; Pandit, Kulkarni, *et al.*, 2009) sont des facteurs importants à prendre en compte.

Les conditions post-récoltes des mangues telles que le stockage (atmosphère modifiée, environnement chaud, réfrigéré, ventilé, etc.) (Beaulieu & Lea, 2003; Bender, Brecht, *et al.*, 2000), les procédés de transformation (la réduction de la pulpe en purée ou en jus, la pasteurisation, le confisage, etc.), (El-Nemr, Ismail, *et al.*, 1988; Ledeker, Suwonsichon, *et al.*, 2014) peuvent aussi modifier fortement l'arôme initial des fruits.

De plus, pour un manguier donné, il existe également une variabilité aromatique inter-fruits. En effet, des mangues récoltées sur le même arbre (même origine) ont toutes une « histoire » différente (date de floraison et de fécondation, le taux d'ensoleillement sur l'arbre, place dans l'arbre, etc.) ce qui aboutit à des profils aromatiques différents (Joas, Vulcain, *et al.*, 2012).

De même, une variabilité aromatique intra-fruit (intrinsèque au fruit) a également été noté par Lalel, Singh, *et al.* (2003b) sur le cultivar *Kensington*. Pour cette variété, la pulpe externe (proche de la peau) est plus riche en monoterpènes et esters que la pulpe interne (proche du noyau) plus riche en composés aromatiques et lactones. De même, la partie haute

du fruit (épaules) est plus riche en composés d'arôme (monoterpènes, sesquiterpènes, alcools, composés aromatiques) que le centre et le bas du fruit (joues et bec).

Toutes ces variabilités aromatiques posent la question de s'assurer d'un lot de fruits homogènes, tant pour les industries agroalimentaires que pour mener à bien des études scientifiques.

2.5.5. Extractions et analyses des composés d'arôme sur produits de mangue

a) Extractions des composés d'arôme

i) Extractions liquide-solide par solvant

Pour étudier les composés d'arôme de la mangue, la technique d'extraction la plus classique est l'extraction liquide-solide réalisée à l'aide d'un solvant organique.

Les études qui ont utilisé cette technique ont toutes été menées sur pulpe de mangue fraîche, mais avec des solvants d'extraction différents : au dichlorométhane (Pandit, Chidley, *et al.*, 2009; Pandit, Kulkarni, *et al.*, 2009), au pentane ou en mélange azéotropique pentane/dichlorométhane (2:1, v:v) (Olle, Baron, *et al.*, 1997; Olle, Baumes, *et al.*, 1998) ou à l'éther diéthylique (Tamura, Boonbumrung, *et al.*, 2000). La phase organique aromatique obtenue après extraction au solvant est filtrée, séchée puis concentrée avant d'être analysée. La concentration de l'extrait peut se faire à l'aide d'un montage Kuderna-Danish, d'une colonne de Vigreux, ou bien par évaporateur rotatif.

Les extractions simples au solvant présentent cependant des inconvénients non négligeables reportés dans la littérature. En effet, l'extraction au solvant est non sélective, tous les composés volatils ou non-volatils ayant une affinité avec le solvant peuvent être extraits. Ainsi, des précurseurs d'arôme extraits par le solvant (caroténoïdes, norisoprénoïdes, acides gras, etc.) peuvent se dégrader par la suite, au cours des opérations de concentration de l'extrait ou bien lors de l'analyse chromatographique, et générer des composés d'arôme non initialement présents dans le profil aromatique originel du fruit (Belitz, Grosch, *et al.*, 2009b; Kanasawud & Crouzet, 1990; Lalel, Singh, *et al.*, 2003c).

Les extraits aromatiques obtenus par extraction au solvant peuvent donc être plus ou moins représentatifs du produit étudié suivant les conditions opératoire menées.

De plus, l'extraction classique au solvant nécessite des volumes de solvant organiques conséquents, souvent nocifs pour l'utilisateur et l'environnement.

ii) Extraction et hydrodistillation simultanées

L'extraction au solvant et hydrodistillation simultanées (SDE, *simultaneous distillation extraction*) est une technique couramment utilisée pour l'étude des composés d'arôme de mangue (MacLeod & de Troconis, 1982; MacLeod & Snyder, 1985; Pino & Mesa, 2006; Pino, Mesa, *et al.*, 2005; Tamura, Boonbumrung, *et al.*, 2000). Pour ce faire, un montage de type Likens-Nickerson est utilisé (Figure 12).

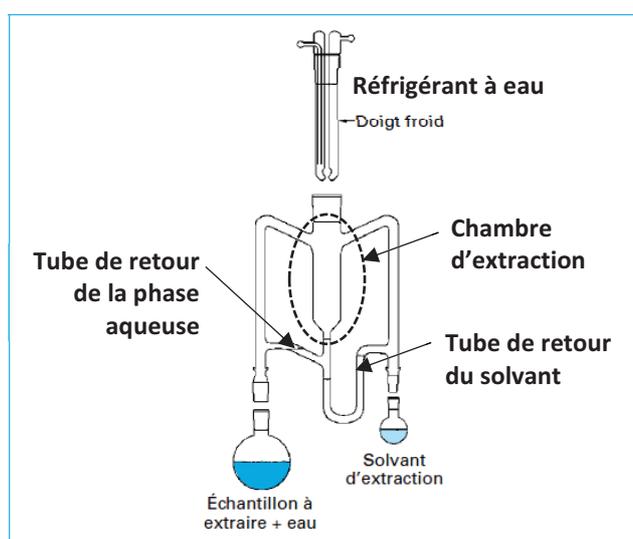


Figure 2 - Appareil de Likens-Nickerson (solvant plus dense que l'eau)

Figure 12 : Schéma du montage de Likens-Nickerson.

Source : adaptée de Xavier (2007)

Le principe de la SDE repose sur l'extraction des composés d'arôme par vapeur d'eau et par solvant organique dans un processus de codistillation continue. Par la suite, l'extrait organique est séché puis concentré avant d'être analysé. L'inconvénient majeur de la technique SDE est que des réactions de dégradation des COVs comme les terpènes (Williams, Strauss, *et al.*, 1980), ou encore l'hydrolyse des glycosides (Sarry & Günata, 2004), ou bien la dégradation des caroténoïdes conduisant à la formation de composés d'arôme (Kanasawud & Crouzet, 1990) peuvent avoir lieu durant le processus d'extraction du fait que le milieu réactionnel soit porté à ébullition.

iii) L'extraction SAFE

L'extraction SAFE est une technique récemment utilisée sur mangue (Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2014; Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2016). Elle a été mise en place par Engel, Bahr, *et al.* (1999). C'est une extraction par solvant réalisée sous vide poussé et avec chauffage très modéré. Les composés non-volatils ne sont pas extraits et les réactions de dégradation des composés induites par chauffage et par oxydation sont extrêmement limitées. Ainsi, l'extraction SAFE permet d'obtenir un extrait aromatique représentatif du profil aromatique originel de la matrice étudiée sans génération d'artéfacts.

Deux techniques SAFE sont aujourd'hui reportées dans la littérature :

- le SAFE en mode « direct », (Majcher & Jeleń, 2009; Murat, Bard, *et al.*, 2013; Ning, Fu-ping, *et al.*, 2011; Paravisini, Gourrat-Pernin, *et al.*, 2012)
- le SAFE en mode « indirect », (Li, Schieberle, *et al.*, 2012; Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2014; Xu, Fan, *et al.*, 2007).

Le SAFE en mode direct demande à réaliser l'extraction sous vide poussé directement sur la matrice étudiée (Figure 13, ci-contre). Les composés volatils entraînés par vapeur d'eau sont piégés dans un ballon placé dans un piège froid (azote liquide). La phase aqueuse aromatique obtenue est ensuite soumise à une extraction liquide-liquide avec un solvant organique. L'extrait aromatique organique obtenu est ensuite séché et concentré avant d'être analysé.

Le SAFE en mode indirect, quant à lui, demande à traiter dans un 1^{er} temps l'échantillon par extraction liquide-liquide ou liquide-solide avec un solvant organique. C'est la phase aromatique organique obtenue qui sera ensuite traitée avec le montage SAFE. Suite à l'extraction sous vide SAFE, l'extrait aromatique organique obtenu est ensuite séché et concentré avant d'être analysé.

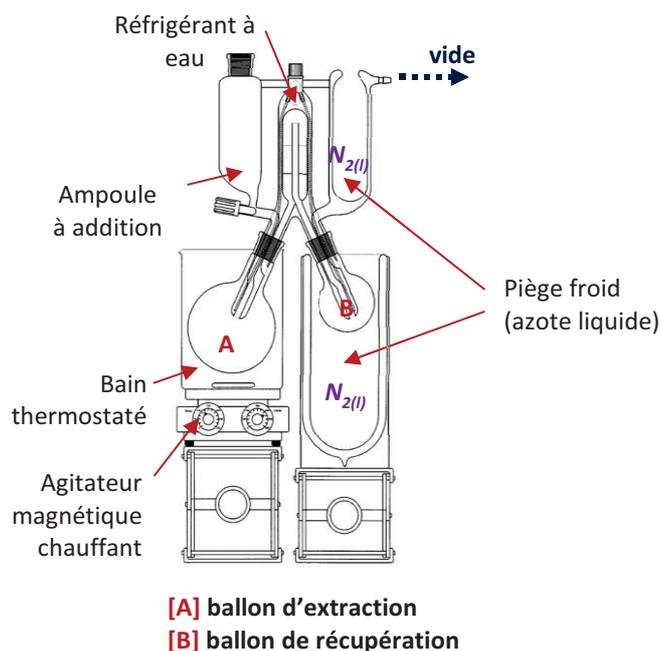


Figure 13. Montage de l'extraction SAFE.

Sources : adaptée de Engel et al. (1999).

iv) Techniques de l'espace de tête

Les composés d'arôme de la mangue peuvent être aussi étudiés par la technique de l'espace de tête. Les deux techniques de l'espace de tête répertoriées dans la littérature et utilisées pour l'étude de l'arôme de mangue sont :

- la *microextraction en phase solide* (SPME, solid phase micro extraction), (Beaulieu & Lea, 2003; Ibáñez, López-Sebastián, *et al.*, 1998; Ignacio, 2007; Junwei, Kye-Chung, *et al.*, 2003; Lalel, Singh, *et al.*, 2003a, 2003b; Liu, Grauwet, *et al.*, 2014; Menezes Filho, dos Santos, *et al.*, 2010; Naef, Velluz, *et al.*, 2005; Shang, Deng, *et al.*, 2002).

- la *technique purge and trap* (P&T ou espace de tête dynamique), (Augustyn, Botha, *et al.*, 2010; Cosse, Todd, *et al.*, 1995; Junwei, Kye-Chung, *et al.*, 2003; Torres, Chiralt, *et al.*, 2012; Vodovotz, Arteaga, *et al.*, 1993).

Ces deux techniques reposent sur l'extraction des composés d'arôme à l'aide d'un polymère adsorbant. Les composés volatils se fixent au polymère par affinité chimique et par liaisons chimiques faibles et réversibles.

Dans le cas de l'extraction SPME (Figure 14), les composés volatils présents dans l'espace de tête sont adsorbés sur une fibre SPME recouverte d'un film de polymère adsorbant. Ces composés sont ensuite thermodésorbés et analysés par chromatographie en phase gazeuse.

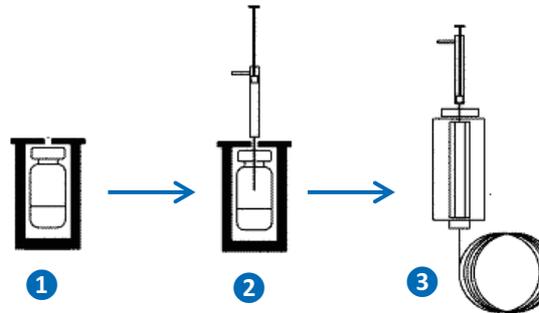


Figure 14. Les étapes de l'extraction SPME.

Légende :

❶ Conditionnement de l'échantillon (phase d'équilibre) ❷ Extraction des composés d'arôme par la fibre SPME (phase d'extraction), ❸ Thermodésorption des composés d'arôme de la fibre SPME dans un injecteur GC (phase de thermodésorption et d'analyse).

Afin de réaliser une extraction SPME efficace, il est nécessaire au préalable d'optimiser les paramètres expérimentaux suivants : le temps et la température d'équilibre et d'extraction et le choix de la fibre SPME (nature chimique et quantité du polymère adsorbant).

Dans la littérature, le choix de la fibre SPME reste très variable suivant les auteurs dans le cas de la mangue : polydiméthylsiloxane (PDMS), carboxen (CAR), divinylbenzène (DVB), polyacrylène (PA), diphasée (PDMS/DVB, CAR/PDMS), triphasée (DVB/CAR/PDMS), (Beaulieu & Lea, 2003; Ibáñez, López-Sebastián, *et al.*, 1998; Ignacio, 2007; Junwei, Kye-Chung, *et al.*, 2003; Lalel, Singh, *et al.*, 2003a, 2003b; Liu, Grauwet, *et al.*, 2014; Menezes Filho, dos Santos, *et al.*, 2010; Naef, Velluz, *et al.*, 2005; Shang, Deng, *et al.*, 2002).

Pour la technique P&T (Figure 15, ci-contre), la matrice est placée dans un flacon d'extraction spécialement conçu pour cette technique. L'échantillon peut être placé à une température donnée avec ou sans agitation (bain thermostaté, agitateur magnétique). Un gaz inerte (le plus souvent de l'azote ou de l'hélium) va entraîner les composés d'arôme de l'échantillon et de l'espace de tête vers un polymère adsorbant où ils seront piégés et concentrés.

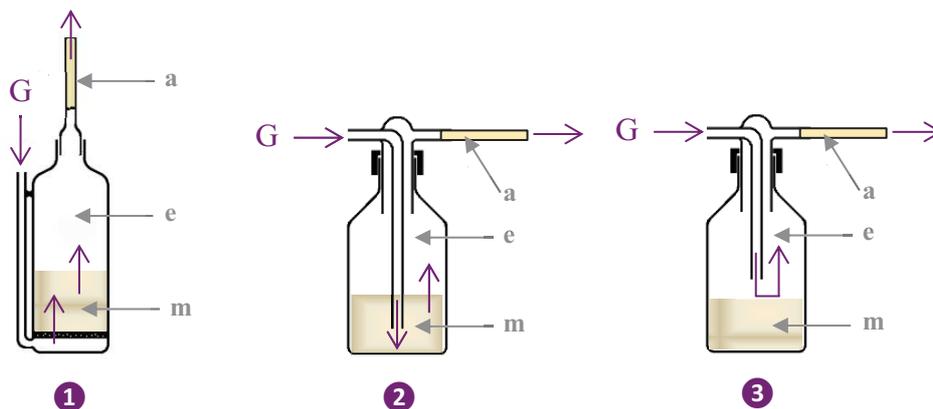


Figure 15 : Les différents modes d'extraction P&T.

Légende :

❶ P&T par bullage total, ❷ P&T par bullage simple, ❸ P&T par effleurage, (m) matrice de l'étude, (e) espace de tête, (a) polymère adsorbant, (G) gaz d'extraction (gaz inerte, azote, hélium, etc.)

Les différentes méthodes P&T que l'on peut rencontrer dépendent du mode d'introduction du gaz vecteur et du mode d'extraction des composés volatils. Ainsi, le gaz peut réaliser une traversée totale de l'échantillon (bullage total), une traversée partielle (bullage simple, barbotage), ou bien un effleurage en surface de l'échantillon (effleurage).

Le polymère adsorbant peut se présenter en tube préconditionné, auquel cas, les composés seront alors thermodésorbés avant d'être analysés en GC. Il est possible aussi de conditionner soi-même le polymère adsorbant dans un dispositif autre. Dans ce cas les composés volatils seront ensuite extraits par solvant organique (extraction liquide-solide), puis la phase aromatique organique obtenue sera récupérée, séchée et concentrée avant d'être analysée.

Afin de réaliser une extraction P&T optimale, les paramètres expérimentaux importants à considérer sont : le mode d'extraction P&T (bullages/effleurage), le débit du gaz vecteur, la température et le temps de la phase d'équilibre et d'extraction ainsi que le choix du polymère adsorbant (mode de présentation poudre/tube, nature chimique, quantité).

Les études menées précédemment en P&T sur mangue ont utilisé exclusivement le polymère Tenax TA (Oxyde de diphényl-2,6-diène). En effet, ce polymère présente de nombreux avantages : il est stable thermiquement, présente un caractère hydrophobe, et est peu discriminant vis-à-vis de l'extraction des nombreuses familles chimiques présentes dans le profil aromatique de la mangue (Augustyn, Botha, *et al.*, 2010; Cosse, Todd, *et al.*, 1995;

Junwei, Kye-Chung, *et al.*, 2003; Torres, Chiralt, *et al.*, 2012; Vodovotz, Arteaga, *et al.*, 1993)

Entre les deux techniques SPME et P&T, la technique P&T permet d'extraire et de concentrer davantage de composés d'arôme (meilleur rendement d'extraction) favorisant ainsi l'identification des composés à l'état de trace par la suite. Les techniques SPME et P&T bien que très simples, pratiques, et souvent automatisées, présentent cependant le désavantage de n'extraire que les composés volatils les plus légers, une extraction traditionnelle au solvant organique est donc souvent requise pour obtenir des profils aromatiques complets. De plus, la compétition d'adsorption et d'extraction des composés d'arôme sur les polymères adsorbants, ainsi que le souci d'homogénéité du matériel d'extraction (fibre SPME, tube polymère P&T) peuvent introduire des biais d'un point de vue reproductibilité.

b) Analyses physicochimique des composés d'arôme

Les composés d'arôme extraits par les différentes techniques d'extraction décrites précédemment (SE, SDE, SAFE, SPME, P&T) sont ensuite analysés en chromatographie gazeuse couplée à un détecteur de type FID (GC-FID) ou bien à un spectromètre de masse (GC-MS).

La quantification des composés se fait souvent par étalonnage interne et au moyen de courbe de calibration. Les données expérimentales obtenues en GC-FID ou GC-MS sont ensuite confrontées avec les données de la littérature (spectres de masse, indices de rétention linéaire) pour identifier les composés. L'injection de molécules standard dans les mêmes conditions d'analyses que l'extrait aromatique permet aussi d'avérer l'identification des molécules extraites.

Afin d'étudier le potentiel odorant et la contribution possible de chaque composé volatil dans l'arôme du produit, une étude de l'extrait aromatique en chromatographie gazeuse couplée à l'olfactométrie (GC-O) peut être menée.

L'analyse GC-O, conduite avec un panel de juges entraînés à cette technique, permet d'obtenir, pour chaque composé d'arôme (d'Acampora Zellner, Dugo, *et al.*, 2008; Delahunty, Eyres, *et al.*, 2006) :

- les notes olfactives correspondantes.
- le facteur de citation (FC ou fréquence de détection), soit la fréquence à laquelle les panelistes arrivent à détecter et à décrire les molécules volatiles lors de l'injection de l'extrait aromatique en GC-O.
- le facteur de dilution (FD, *flavour dilution factor* ou puissance olfactive relative), soit la dilution de l'extrait aromatique la plus basse à laquelle le composé est encore perceptible par les panélistes. Le FD est déterminé par la méthode AEDA (*aroma extract dilution analysis*) où l'extrait aromatique est dilué successivement par un facteur de dilution constant et où chaque dilution successive est analysée en GC-O par le panel jusqu'à ce que les composés d'arôme ne soient plus perceptibles.

De plus, le nombre d'unité d'odeur ou OAV (*Odour Activity Value*) peut être aussi calculé pour apprécier l'activité odorante des composés dans le produit étudié (d'Acampora Zellner, Dugo, *et al.*, 2008; Delahunty, Eyres, *et al.*, 2006). L'OAV est calculée en effectuant le ratio de la concentration du composé dans la matrice étudiée sur le seuil de perception olfactif du composé ou OT (*odour threshold*) dans la matrice ou dans une matrice modèle proche.

Les composés aromatiques ayant un FC, FD et OAV importants peuvent être considérés comme impactants et clés pour l'arôme du produit.

c) Analyses sensorielles sur produits de mangue

Pour discriminer ou décrire des produits de mangue d'un point de vue aromatique, il est également possible de procéder à des tests descriptifs en analyse sensorielle avec un panel de juges entraînés. Plusieurs études sensorielles ont déjà été menées notamment sur mangue fraîche et produits transformés de mangue (purée pasteurisée, jus, etc.). La liste des descripteurs sensoriels communément utilisés pour décrire l'odeur, l'arôme, la texture, les saveurs et les impressions en bouche des produits de mangue sont présentés de manière non-exhaustive, dans le tableau ci-contre (Tableau 4).

Tableau 4. Descripteurs sensoriels communément utilisés en analyse sensorielle sur produits de mangue.

Sources : extraits de Suwonsichon, Chambers Iv, et al. (2012), Ledeker, Suwonsichon, et al. (2014), Ledeker, Chambers, et al. (2012), Malundo, Shewfelt & Ware (2001), Malundo, Baldwill, et al. (1996).

Odeur et/ou Arôme		Saveurs	Impression en bouche	Texture
<i>Notes fruitées</i>	Mangue	Sucré	Astringent	Ferme
	Pêche	Acide	Piquant	Fondant
	Goyave	Amer	Métallique	Dense
	Banane			Farineux
	Ananas			Particules
	Citrus (Orange, citron, pamplemousse)			Fibreux
<i>Notes de fruit sur-mûr</i>	Fermentée alcoolique			Visqueux
	Amidon			
<i>Notes de légumes</i>	Pomme de terre			Juteux
<i>Notes vertes</i>				
<i>Notes épicées</i>	Cumin			
	Clou de girofle			
	Poivre			
	Pin			
<i>Notes boisées</i>	Résine			
	Mousse			
<i>Note de térébentine</i>				
<i>Note terpénique</i>				
<i>Note de caramel</i>				
<i>Note florale</i>				
<i>Note soufrée</i>				
<i>Note animale</i>				

2.6. Stratégie d'étude générale et approche scientifique globale

Afin d'étudier l'impact de la texture d'un fruit sur la libération *in vivo* et sur la perception des composés d'arôme au cours de la consommation d'un produit de fruit, une stratégie d'étude générale et une approche scientifique globale ont été posées (Figure 16, p 57).

2.6.1. Choix du fruit modèle et des produits d'étude

La mangue s'est présentée comme un fruit modèle d'étude intéressant pour répondre à la problématique posée.

En effet, ce fruit tropical présente un profil aromatique riche et complexe de par les nombreux COVs qui le composent avec, la présence de classes chimiques différentes (terpènes, hydrocarbures non-terpéniques, esters, alcools, aldéhydes, cétones, lactones, etc.), et la présence de notes aromatiques intéressantes et diversifiées (notes terpéniques, citrus, épicées, vertes, florales, fruitées, etc.). Le profil aromatique de la mangue permettra ainsi une étude complète de la libération *in vivo* et de la perception de divers composés d'arôme. De plus, la mangue est un fruit qui peut se décliner en de nombreux produits de transformation aux textures différentes. Ce fruit permettra ainsi l'obtention de différentes matrices d'étude intéressantes pour ces travaux. Enfin, la mangue est un fruit inscrit dans les projets de recherche de l'UMR QualiSud et a fait l'objet de nombreuses études scientifiques. Ainsi, les connaissances et résultats apportés par cette étude de thèse permettront d'enrichir les connaissances scientifiques actuelles sur ce fruit.

Parmi les nombreuses variétés de mangue produites à travers le monde, la variété *Kent* a été choisie pour ces travaux. En effet, cette variété est présente tout au long de l'année et en quantité sur le marché européen. Elle présente également des qualités organoleptiques intéressantes au regard des 5 autres variétés les plus produites à travers le monde (*Tommy Atkins, Keitt, Osteen, Haden, Valencia Pride*).

Parmi les nombreux produits de fruits élaborés à base de mangues (jus, nectars, confitures, fruits séchés, etc.), quatre produits de mangue ont été choisis pour répondre à la problématique posée. Deux produits frais (cubes frais de mangue, purée fraîche de mangue) et deux produits séchés (cubes séchés de mangue, poudre séchée de mangue) constitueront ainsi les produits de mangue de l'étude. Chaque paire de produits frais (purée/cubes) et séchés (poudre/cubes) présentent des propriétés aromatiques (nature et quantité des COVs) et physicochimiques ($^{\circ}\text{Bx}$, pH, acidité titrable, matière sèche, a_w) comparables, mais présentent

des textures différentes (produits structurés vs produits déstructurés). Ainsi, les produits frais (purée/cubes) seront comparés deux à deux, et parallèlement, les produits séchés (poudre/cubes) seront aussi comparés deux à deux tout au long de ces travaux.

2.6.1. Choix de la stratégie d'étude et de l'approche scientifiques à adopter

La stratégie d'étude qui a été adoptée, pour étudier l'impact de la texture d'un fruit sur la libération *in vivo* et sur la perception des composés d'arôme, se décline suivant une approche scientifique globale incluant 3 axes d'étude (Figure 16, ci-contre).

Tout d'abord, en prérequis, un lot de mangue homogène a été constitué afin d'obtenir les produits de mangue frais et séchés de l'étude (cubes frais, purée fraîche, cubes séchés et poudre séchée). Chaque paire de produits frais et séchés se veulent comparables d'un point de vue aromatique et physicochimique mais différents d'un point de vue texture. À ces fins, un protocole précis de sélection des fruits et de fabrication produits a été établi pour limiter les variabilités aromatiques intra et inter-fruits/produits.

Puis, pour répondre à la problématique posée, un 1^{er} axe d'étude a été dédié à la caractérisation du potentiel aromatique des produits de mangue avant leur consommation *in vivo*. Pour cela, la technique d'extraction SAFE couplée à l'analyse GC-MS ont été utilisées pour mettre en évidence l'ensemble des COVs des 4 produits d'étude. Par calcul de l'OAV et des données de la littérature, les COVs potentiellement les plus impactants dans l'arôme des produits ont ainsi été identifiés.

Puis, un 2^{ème} axe d'étude a été consacré à la libération *in vivo* des COVs émis par voie rétronasale par un panel de dégustateurs au cours de la consommation des 4 produits d'étude. Pour cela, les techniques de suivi discontinu *in vivo* SPME/GC-MS et RATD/GC-MS ont été employées pour suivre les COVs relargués dans les effluves nasales des dégustateurs. Au vu des résultats obtenus, une étude complémentaire en condition *in vitro* a été réalisée par P&T/GC-MS afin d'évaluer l'impact de la salive humaine sur la libération des COVs des produits de mangue.

Enfin, le 3^{ème} axe d'étude a été dédié à la caractérisation du profil sensoriel des produits de mangue par analyse sensorielle avec un panel de dégustateurs entraînés. L'odeur, les saveurs, la texture et l'arôme des produits d'étude ont ainsi été évalués.

Les résultats ainsi obtenus sur ces 3 axes d'études ont été réunis, confrontés et discutés pour répondre à la problématique de thèse posée.

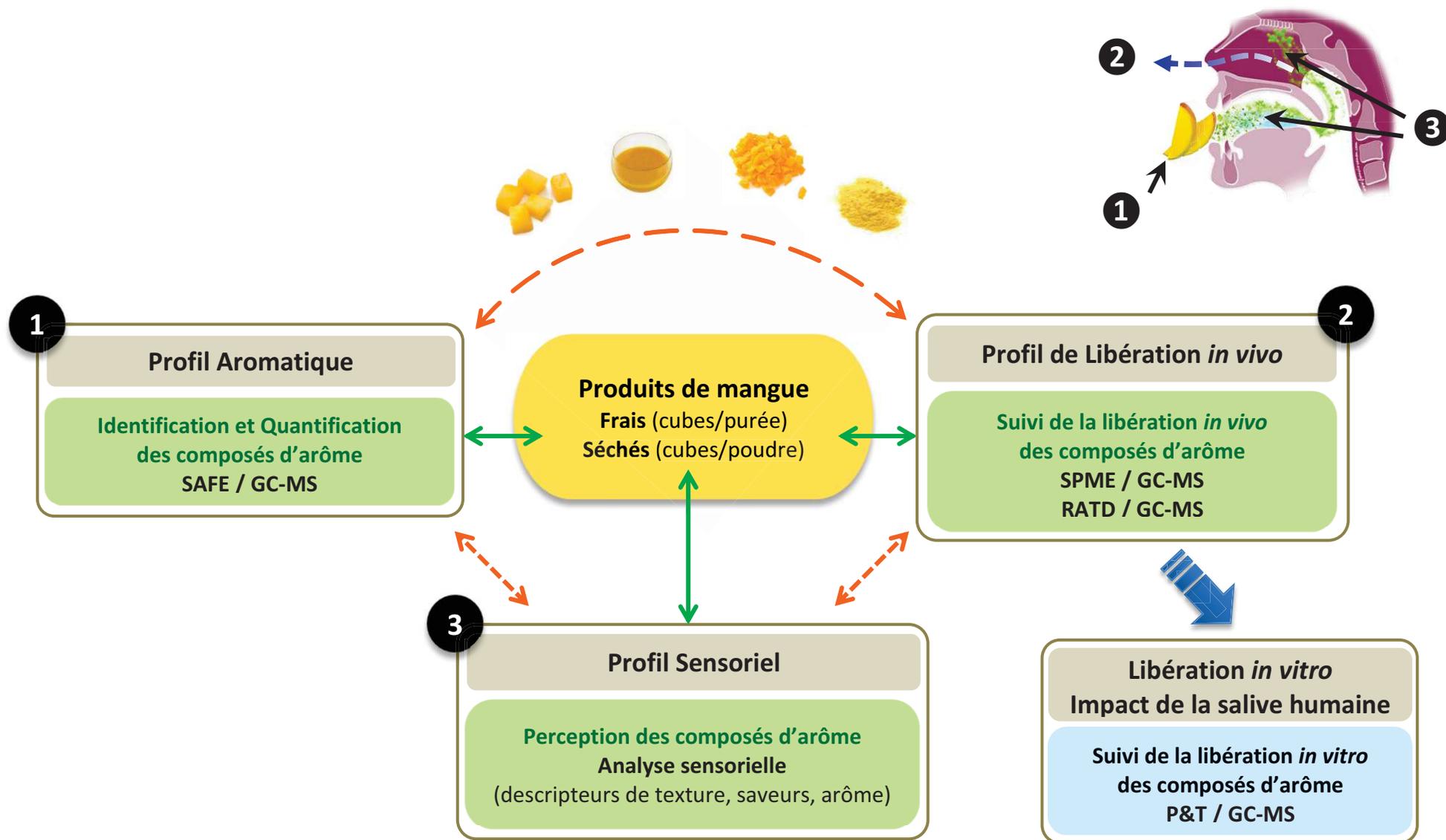


Figure 16. Schéma de la stratégie d'étude générale et de l'approche scientifique globale adoptées.

3. Matériel et Méthodes

3. Matériel et Méthodes

Les expériences menées au cours de ces travaux de thèse suivent plusieurs axes de recherche visant à répondre à la problématique de thèse.

Tout d'abord, une 1^{ère} partie de ce chapitre *Matériel et Méthodes* est dédiée à la fabrication des produits de mangue de l'étude et à la caractérisation de leurs propriétés physicochimiques (acidité, taux de sucre, matière sèche, etc.).

Le potentiel aromatique des produits de mangue de l'étude a ensuite été étudié dans une 2^{ème} partie par SAFE/GC-MS.

Les parties expérimentales 3 et 4 visent à étudier la libération des composés d'arôme au cours de la consommation des produits de mangue en conditions *in vivo*. Pour cela, des expériences *in vivo* en SPME/GC-MS et RATD/GC-MS ont été menées.

À l'issue des résultats *in vivo* obtenus, des expériences *in vitro* ont été conduites en P&T/GC-MS dans une 5^{ème} partie afin d'étudier l'impact de la salive humaine sur la libération des composés d'arôme en simulant, au mieux, les conditions *in vivo*.

Enfin, dans une 6^{ème} et dernière partie, la perception des composés d'arôme des produits de mangue de l'étude a été étudiée par analyse sensorielle.

Partie 1 : Matière première et produits d'étude

3.1. Constituer un lot de fruits homogènes

Pour obtenir des produits de mangue qui soient comparables d'un point de vue aromatique, il est nécessaire, au préalable, de bien choisir les fruits qui serviront de matière première à la fabrication de ces produits. En ce sens, les lots de fruits constitués au cours de cette étude se veulent le plus homogène possible en termes de maturité et de maturation des fruits afin de limiter les variabilités aromatiques inter-fruits.

3.1.1. Choix des mangues à l'achat

Le choix des fruits s'est opéré dès leur achat, sur les étals de commerces de grande distribution à Montpellier (Carrefour, Groupe Pomona, primeur Danifruit). Les fruits ont été minutieusement choisis suivant leur calibre (forme, poids, taille), leur qualité apparente (pas de déshydratation, de blessures, de piqûres d'insecte ou d'infections diverses) et leur fermeté au toucher comme première évaluation de leur niveau de maturité et de maturation.

Tous les lots de fruits constitués durant les travaux de thèse ont été réalisés à partir de la variété de mangue Kent (*Manguiфера indica* L. cv. Kent) de par sa disponibilité sur le marché européen et de par ses qualités aromatiques. Suivant les périodes de l'année où se sont déroulées les expériences, seuls l'origine géographique et le mode d'importation des fruits (par bateau ou par avion) ont pu varier d'un lot de fruits d'étude à l'autre.

Une fois les fruits achetés, ces derniers ont été réceptionnés à la halle de technologie agroalimentaire de l'UMR QualiSud sur le site du CIRAD à Montpellier. L'ensemble des opérations unitaires impliquant la maturation (le « raffinage » des fruits) et la transformation des fruits en produits d'étude a été réalisé sur cette même plateforme technologique.

3.1.2. Choix des mangues avant transformation produits

Les mesures classiques utilisées pour estimer la qualité des fruits tout le long d'une filière (de la cueillette à l'achat par le consommateur) sont des mesures de teneur en sucres et en acides et des mesures de fermeté.

Dans notre cas, dès la réception des fruits, une 1^{ère} mesure de la fermeté a été réalisée pour évaluer le niveau de maturation des mangues via une méthode non destructive déjà utilisée sur pêche, nectarine, prune et mangue (Valente, Prades, *et al.*, 2013; Valero, Crisosto, *et al.*, 2007). Il s'agit d'utiliser un duromètre avec un embout plat calibré qui, suite à une pression, déforme l'épiderme de manière superficielle et permet de classer les fruits par niveau de fermeté. Dans cette étude, le duromètre manuel Durofel (Setop Giraud Technologie, Cavaillon, France) équipé d'un embout plat calibré avec une surface de 0.10 cm² (utilisé classiquement pour les fruits à chair souple de calibre moyen type abricot, pêche et mangue) a été utilisé (Figure 17 a).

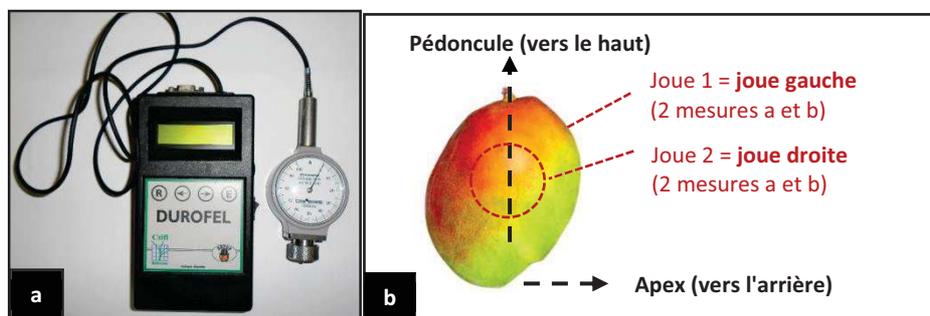


Figure 17. (a) Duromètre manuel Durofel avec un embout plat calibré de 0.10 cm², (b) Positions des joues gauche et droite des mangues pour réaliser des mesures de fermeté au Durofel.

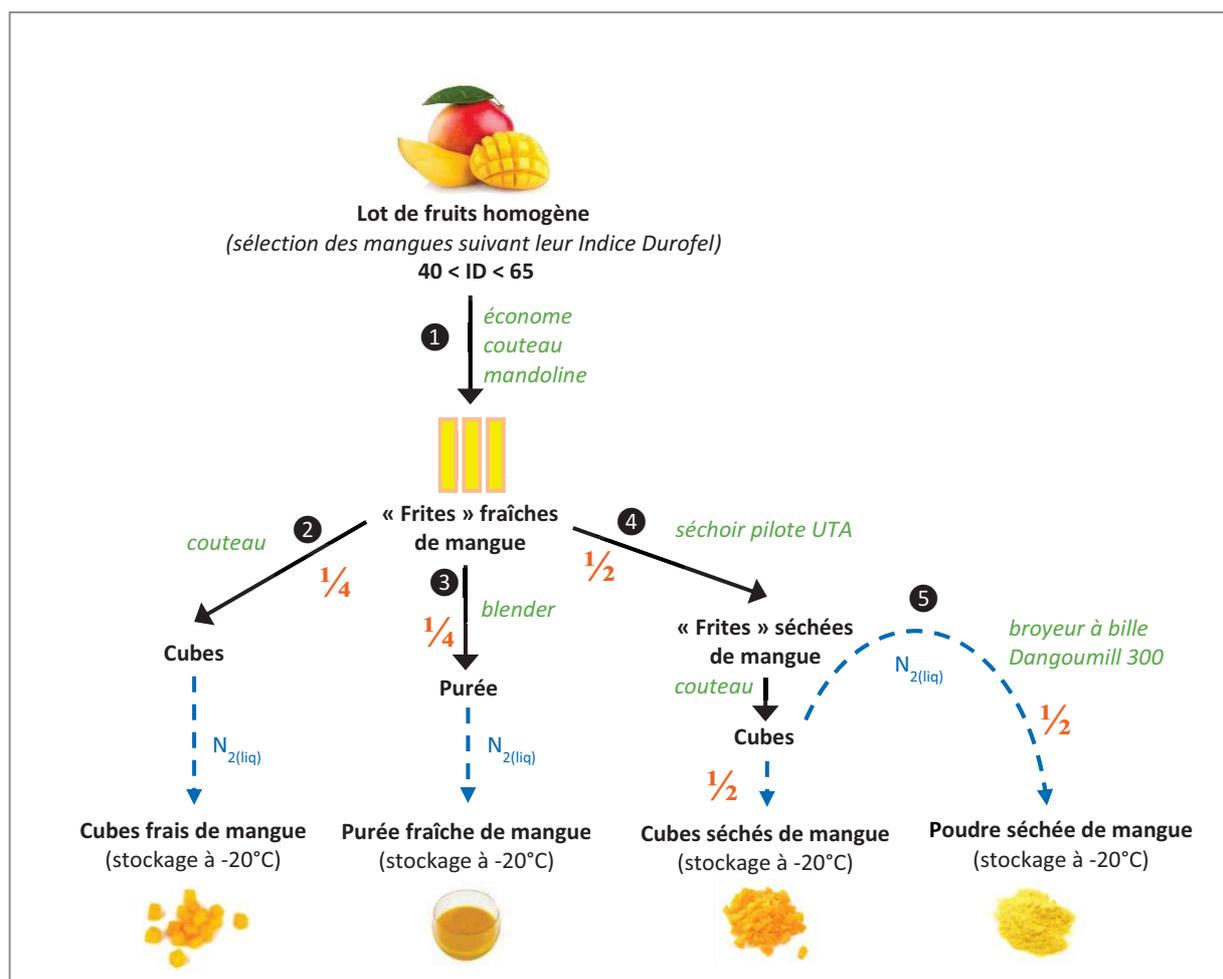
Pour chaque mangue du lot, 2 mesures de fermeté ont été réalisées sur chaque joue (Figure 17 b), soit 2 pressions du piston à réaliser à la perpendiculaire de l'épiderme, sur les zones équatoriales des joues droites et gauches des fruits. La mesure lue sur le cadran est exprimée en Indice Durofel (ID, unité arbitraire allant de 0 à 100).

Pour obtenir des mangues avec une fermeté adéquate pour la réalisation des produits frais et séchés de l'étude, des ID entre 40 et 65 ont été recherchés. Dans le cas où les mangues réceptionnées présentaient une maturation trop juste (mangues trop fermes, ID > 70), une étape de « raffinage » a été réalisée en chambre climactérique (KBF 720 E2.1, Binder GmbH, Tuttlingen, Germany). Pour cela, le temps de raffinage, la température (°C) et l'hygrométrie (% HR) de la chambre climactérique ont constitué les variables de maturation. Celles-ci ont différées d'un lot de fruits d'étude à l'autre en fonction de la qualité des fruits (temps de raffinage 1 à 3 jours, température de 20 à 25 °C, hygrométrie de 80 à 90 % HR).

Pour un suivi optimal de l'homogénéité du lot de mangues, une mesure de fermeté à la réception des fruits et une mesure de fermeté de contrôle juste avant transformation des fruits ont été opérées.

3.2. Fabrication des produits de mangue de l'étude

La fabrication des produits de mangue de l'étude compte plusieurs étapes présentées ci-dessous (Figure 18) et détaillées par la suite.



- ① Les mangues sont pelées et passées sur mandoline pour obtenir des « frites » fraîches de mangue
- ② $\frac{1}{4}$ des frites fraîches sont coupées en cubes frais au couteau puis sont figées à l'azote liquide
- ③ $\frac{1}{4}$ des frites fraîches sont réduites en purée fraîche au blender puis figées à l'azote liquide
- ④ $\frac{1}{2}$ des frites fraîches sont passées au séchoir pilote pour obtenir des frites séchées. Celles-ci sont ensuite coupées en cubes séchés au couteau.
- ⑤ $\frac{1}{2}$ des cubes séchés sont réduits en poudre séchée au broyeur à bille sous azote liquide.

Figure 18. Fabrication des produits de mangue de l'étude.

3.2.1. Préparation des fruits et de la chair de mangue

Dans un 1^{er} temps, les fruits et le matériel de découpe (couteaux, économes, mandolines, planches à découper, tissus des claies de séchage, etc.) sont plongés et lavés pendant 10 min. dans une solution d'hypochlorite de sodium à 100 ppm (soit 10 mL de solution de chlore actif¹ à 9.6 % pour 10 L d'eau). Ces derniers sont ensuite rincés abondamment à l'eau claire et mis à sécher. D'un autre côté, les tables de découpe et les claies de séchage sont plongées et lavées pendant 10 min. avec une solution de turbo oxybrite² à 4 % (soit 400 mL de solution pure dans 10 L d'eau), puis sont rincées abondamment à l'eau claire et mises à sécher.

Une fois le matériel et les fruits désinfectés, la préparation des produits de mangue peut commencer. Les mangues sont tout d'abord pelées, puis les joues des mangues sont passées à la mandoline sur toute leur longueur afin d'obtenir des « frites » de mangue fraîche (rectangle de 0.8 cm de largeur x 0.8 cm de hauteur x environ 8 cm de longueur). Les frites fraîches ainsi obtenues (Figure 18, étape ①) sont réparties de manière équitable en 4 lots pour confectionner les 4 produits d'étude de telle sorte que chaque mangue soit représentée dans chaque produit.

3.2.2. Confection des produits frais de mangues

Un lot de frites fraîches est utilisé pour confectionner les cubes frais de mangue (Figure 18, étape ②). Pour cela, les frites sont coupées en cubes réguliers au couteau (environ 0.8 cm de largeur x 0.8 cm de hauteur x 1 cm de longueur) puis sont gelées à l'azote liquide en petites portions avant d'être échantillonnées dans des bocaux en verre et placées à -20 °C.

Parallèlement, un autre lot de frites fraîches est passé au blender (Blender de laboratoire, Waring Commercial®), à température ambiante (23°C) pendant 20 sec. à 22 000 rpm en plusieurs passes de mixage. La purée de mangue fraîche ainsi obtenue (Figure 18, étape ③) est ensuite gelée à l'azote liquide en petites portions avant d'être échantillonnée dans des bocaux en verre et placée à -20 °C.

¹ Solution d'hypochlorite de sodium à 9.6 % CA (Ets D. RICHET, France)

² Solution de turbo oxybrite (ECOLAB, Allemagne): mélange de peroxyde d'hydrogène, d'acide acétique et d'acide peracétique.

3.2.1. Confection des produits séchés de mangues

Les 2 lots de frites fraîches restants sont utilisés pour confectionner les produits séchés de mangue (Figure 18, étape ④). La figure ci-contre illustre les différentes étapes opératoires requises pour confectionner les produits séchés de mangue (Figure 19).



Figure 19. Opération de séchage menée pour obtenir les produits de mangue séchés.

Dans un 1^{er} temps, les claies de séchage sont équipées de tissus (Figure 19 a), puis sont chargées avec les frites fraîches de mangue (Figure 19 b). Le poids initial des claies et le poids des claies chargées de fruits frais sont relevés avant séchage. Les claies chargées de frites fraîches sont ensuite disposées uniformément dans le séchoir pilote UTA (séchoir UTA, Villeneuve-sur-Lot, France) préalablement programmé à 60 °C avec et un flux d'air constant et une hygrométrie de 40% HR (Figure 19 c et d). Une fois le séchage initié, les claies sont pesées toutes les 30 min. afin de suivre la perte en eau des fruits au cours du séchage. Le séchage est terminé lorsque les fruits ont atteint une activité de l'eau (a_w) inférieure à 0.6 en accord avec les normes de sécurité alimentaire (Pott, Neidhart, *et al.*, 2005). Sur les produits de mangue, une $a_w < 0.6$ correspond à une perte de masse d'environ 80% ($\pm 5\%$) par rapport au poids initial en produits frais. Le temps de séchage nécessaire pour obtenir des frites de mangue séchées varie d'un lot de fruits d'étude à l'autre en fonction de la matière sèche des fruits et de la quantité de mangue chargée dans le séchoir.

Les 2 lots de frites fraîches sont séchés ensemble en une seule opération de séchage (Figure 18, étape ④). Une fois le séchage terminé, les 2 lots de frites séchées obtenus sont coupés en cubes réguliers au couteau (environ 0.6 x 0.3 x 1 cm). Les 2 lots de cubes séchés

sont ensuite traités séparément. D'un côté, un lot de cubes séchés est échantillonné en petites portions dans des sachets thermoscellables et placés à -20 °C. D'un autre côté, les cubes séchés sont broyés sous azote liquide au broyeur à bille (Dangoumill 300, Prolabo, Fontenay-sous-Bois, France) pendant 30 sec. en plusieurs passes dans un bol de capacité de 60 g. La poudre de mangue grossière obtenue est échantillonnée en petites portions dans des bocaux en verre et est placée à -20 °C.

3.3. Caractérisation physicochimique des produits de mangue

Les propriétés physicochimiques des 4 produits de mangue de l'étude ont été caractérisées en amont des expériences *in vivo* et *in vitro* menées. Ainsi, l'extrait sec soluble (°Bx), le pH, l'acidité titrable (AT), l'activité de l'eau (a_w) et la matière sèche (MS) des produits ont été établis avec les protocoles et le matériel décrits ci-après.

Pour réaliser l'ensemble des mesures physicochimiques, les produits ont été préalablement décongelés pendant 1h à température ambiante (23 ± 1 °C). Les cubes de mangue frais et séchés ont été respectivement réduits en purée fraîche et en poudre séchée à l'aide du matériel décrit précédemment (Blender de laboratoire Waring Commercial® et broyeur à bille Dangoumill 300). Les produits séchés ont été réhydratés avec de l'eau distillée pour réaliser les mesures de °Bx, pH et AT. Pour cela, un ratio de dilution produit/eau distillée de 1/1 en masse a été utilisé. Toutes les mesures physicochimiques ont été répétées 3 à 4 fois suivant les lots de mangue de l'étude.

3.3.1. L'extrait sec soluble

L'extrait sec soluble des produits de mangue a été défini au moyen du réfractomètre manuel numérique (ATAGO® PAL-3, Atago Instruments, Tokyo, Japon). La valeur lue sur le réfractomètre est exprimée en °Bx (± 0.1). Celle-ci exprime la masse totale de sucres solubles en g présents dans la matrice pour 100 g de produit.

Le réfractomètre a tout d'abord été étalonné avec de l'eau distillée. Puis, la mesure du °Bx s'est opérée avec un dépôt de quelques gouttes de produits de mangue sur la lunette de mesure du réfractomètre. Pour les produits séchés, la valeur du °Bx lue a ensuite été réévaluée à partir du ratio de dilution utilisé.

3.3.2. Le pH et l'acidité titrable

Les mesures de pH et d'acidité titrable (AT) des produits de mangue ont été réalisées avec un titrateur de pH (Titroline 96, Schott-Geräte GmbH, Allemagne) équipé d'une sonde de mesure avec une solution de KCl (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA). Le titrateur est étalonné à pH 4 et pH 7 en amont des mesures avec deux solutions tampons (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA).

Dans un 1^{er} temps, le pH (sans unité, à ± 0.1) est lu directement avec le titrateur et la sonde de mesure.

Puis, l'AT est mesurée en utilisant une solution de soude à 0.1 M (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Celle-ci est exprimée en milli-équivalent d'acide citrique (% méq acide citrique, ou g d'acide citrique pour 100g de produit de mangue à ± 0.1), cet acide étant majoritaire dans la mangue (Tharanathan, Yashoda, *et al.*, 2006). L'AT a été calculée à partir de la formule suivante **(1)**, (Nielsen, 2014):

$$(1) \quad \text{méq acide citrique (\%)} = \frac{N \times V \times \text{Eq.wt}}{W \times 1000} \times 100$$

Avec :

- N, la normalité de la solution titrante (mEq/ml). Ici, la molarité de la solution de soude NaOH utilisée est $M = 0.1 \text{ mol/L}$ donc $N = 0.1 \text{ mEq/mL}$.
- V, le volume de soude nécessaire pour tamponner le produit (mL). Ici, l'ajout de soude NaOH est interrompu lorsqu'un pH de 8.3 est atteint.
- Eq.wt, l'équivalent en masse de l'acide prédominant (mg/mEq). Soit, pour l'acide citrique $\text{Eq.wt} = 64.04 \text{ mg/mEq}$.
- W, la masse de produit utilisée pour la mesure d'AT (g)

La formule peut alors se simplifier comme suit **(2)** :

$$(2) \quad \text{méq acide citrique (\%)} = \frac{0.1 \times V_{\text{éq}} \times 64.04}{W \times 1000} \times 100$$

Environ 5 g de produits frais et 2.5 g de produit séchés de mangue ont été utilisés pour chaque mesure de pH et d'AT. L'AT des produits séchés a ensuite été réévaluée à partir du ratio de dilution utilisé.

3.3.3. L'activité de l'eau et la matière sèche

L'activité de l'eau (a_w) des produits de mangue a été évaluée au moyen d'un a_w -mètre AquaLab 4TE (Decagon Devices, Pullman, WA, USA). L' a_w exprime la quantité d'eau libre présente dans une matrice. L' a_w -mètre est étalonné en amont des mesures avec une solution saturée en sel (NaCl). L'appareil est opérationnel lorsque le blanc est compris entre [0.7500-0.7560]. Les mesures d' a_w (sans unité, ± 0.0001) sont réalisées à 25 °C et avec quelques grammes de produits de mangue.

La matière sèche (MS) des produits d'étude a été établie en suivant la procédure AOAC 934.06/37.1.10 (AOAC, 2000), elle est exprimée en % (g de matière sèche pour 100 g de matière humide, ± 0.1). Environ 2 g de produits de mangue sont placés dans des petites coupelles en aluminium préalablement séchées et pesées. Les coupelles sont ensuite laissées dans un four (Heraeus RVT 360, Heraeus GmbH, Hanau, Allemagne) sous vide à 70 °C pendant 48h. Après déshydratation complète des produits, les coupelles sont de nouveau pesées, et la matière sèche des produits de mangue sur base humide est calculée à partir de la formule suivante **(3)** :

$$(3) \quad MS (\%) = \frac{M_D}{M_F} \times 100$$

Avec, M_F la masse de produit de mangue avant déshydratation (en g) et M_D la masse de produit de mangue après déshydratation (en g).

Partie 2 : Caractérisation du profil aromatique des produits d'étude

Pour étudier le profil aromatique des produits de mangue de l'étude, les composés d'arôme ont tout d'abord été extraits par la technique SAFE puis ont été ensuite analysés et quantifiés en GC-MS.

3.4. Extraction des composés d'arôme par la technique SAFE

3.4.1. Avant-propos

Il existe deux techniques SAFE décrites dans la littérature que l'on nommera « SAFE direct » et « SAFE indirect » dans la suite de ce manuscrit.

La technique du SAFE direct (Figure 20, ci-contre) consiste à extraire directement les composés d'arôme de la matrice d'intérêt. L'extrait aromatique aqueux obtenu est ensuite soumis à des étapes post-extraction SAFE. Une extraction liquide-liquide au solvant est ainsi opérée puis, l'extrait aromatique organique obtenu est ensuite séché et concentré avant d'être analysé.

La technique du SAFE indirect (Figure 20, ci-contre) demande dans un 1^{er} temps à réaliser des étapes pré-extraction SAFE. Une extraction liquide-liquide ou liquide-solide au solvant organique sur la matrice d'intérêt est réalisée. L'extrait aromatique organique obtenu peut être filtré ou bien centrifugé avant l'extraction SAFE. À l'issue de l'extraction SAFE, l'extrait aromatique organique obtenu est séché et concentré avant d'être analysé.

Au vue des deux méthodes SAFE existantes et d'un précédent travail réalisé en SAFE sur mangue (Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2014), les deux techniques SAFE ont été testées afin de choisir un protocole SAFE à suivre pour la suite des travaux de thèse.

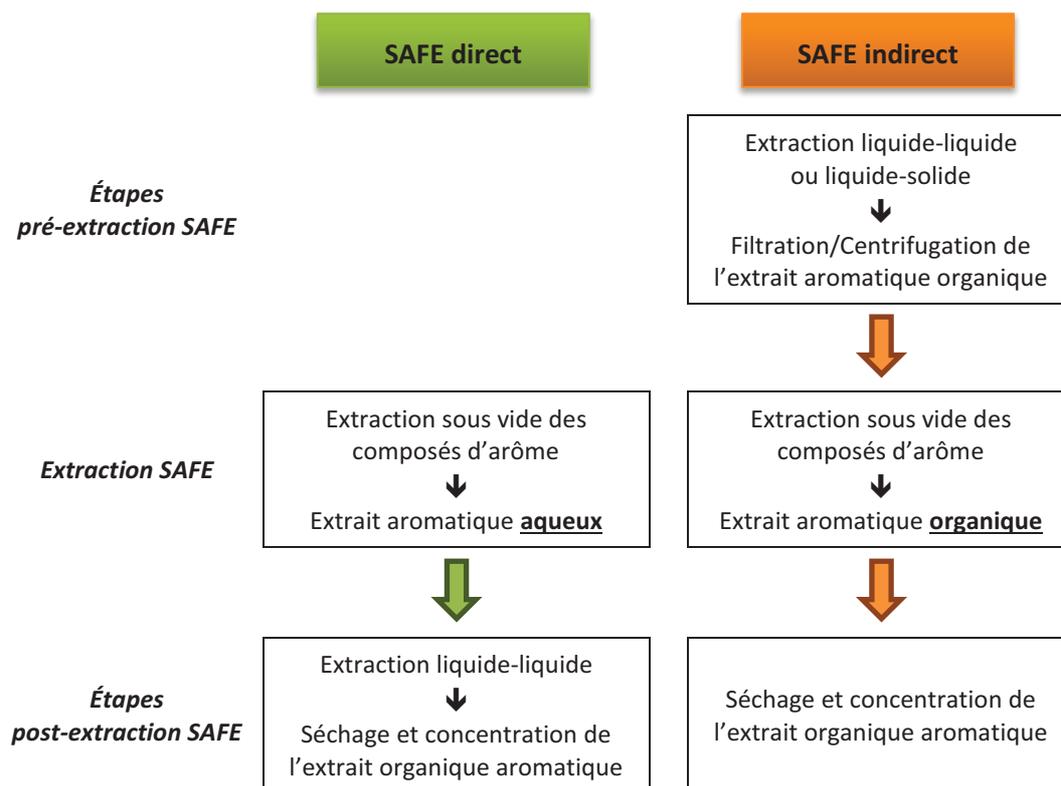


Figure 20. Les techniques SAFE en mode direct et indirect reportées dans la littérature.

Les tests SAFE en mode direct et indirect ont été réalisés sur de la purée de mangue issue d'un lot de mangues Kent en provenance de Côte d'Ivoire (9 mangues, indice de fermeté $50 < ID < 60$). La préparation de cette purée test suit le protocole décrit précédemment pour les produits de mangue frais (cf. Partie 1, §3.2, p 62)

3.4.2. Le montage de l'extraction SAFE

Le matériel, le montage et la procédure d'extraction SAFE utilisés dans cette étude s'inspirent des travaux d'Engel *et al.* (1999). La figure ci-contre illustre le montage SAFE mis en place à l'UMR- QualiSud (Figure 21).

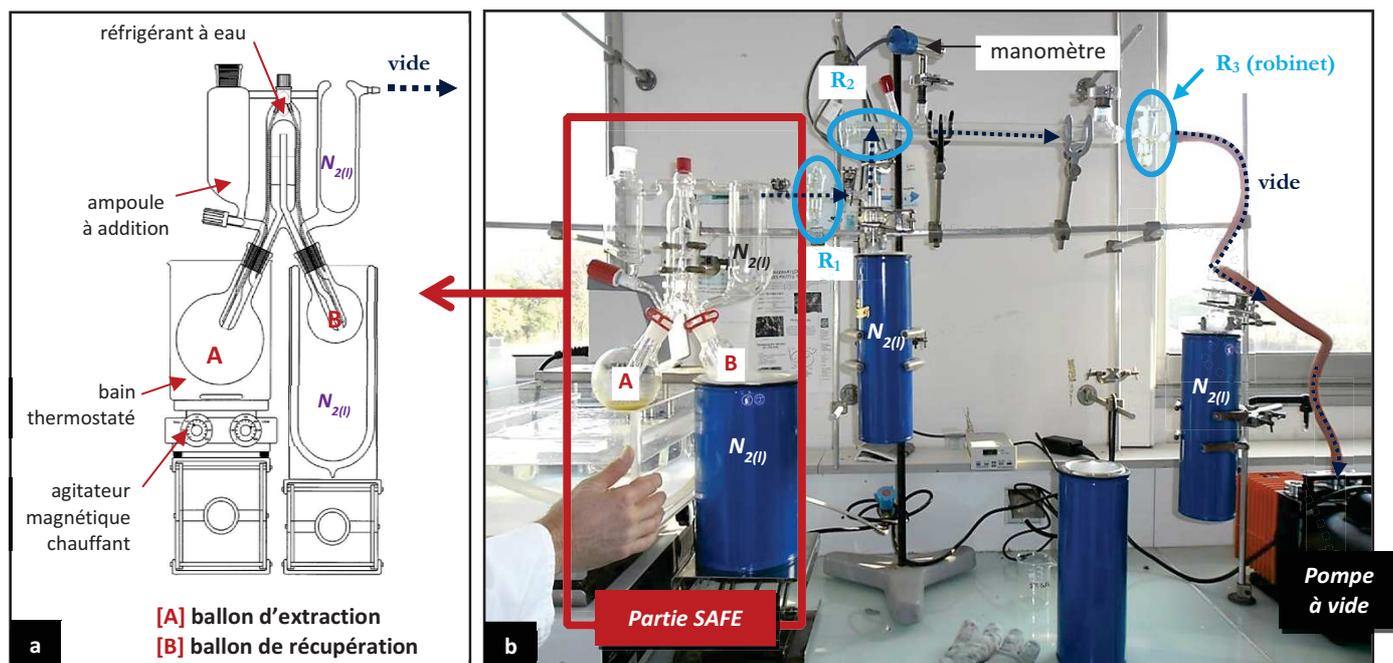


Figure 21. Montage de l'extraction SAFE : (a) schéma du corps du montage SAFE extrait des travaux d'Engel *et al.* (1999), (b) photo du montage SAFE mis en place au CIRAD.

Par définition, la technique SAFE consiste à extraire les composés d'arôme d'une matrice sous vide poussé, en utilisant un solvant d'entraînement (aqueux ou organique) et en piégeant les composés volatils par des pièges froids (azote liquide).

Pour cela (Figure 21b), le bain thermostaté et le réfrigérant à eau sont placés à 45 °C. La pompe à vide, les 3 pièges à azote liquide (soit 1 dewar pour le ballon B et 2 dewars pour la suite du montage) et les 3 robinets de connexion (R₁, R₂, R₃) permettent d'établir un vide progressif dans le corps du montage SAFE par un jeu d'ouverture et de fermeture des robinets. Le vide est contrôlé *via* un manomètre numérique (Granville Phillips 375, MKS Instruments, Andover, MA, USA) et est considéré comme optimal lorsque celui-ci atteint 10⁻³ mbar.

3.4.1. Extraction des composés d'arôme par SAFE direct

Dans le ballon d'extraction (ballon A de 500 mL, Figure 21) sont introduits 60 g de produit de mangue (purée fraîche ou poudre séché de mangue), 100 mL d'eau ultra pure (eau milli-Q), 30 µg d'étalon interne en solution, un barreau aimanté et quelques grains de pierre ponce en PTFE pour réguler l'ébullition.

Au préalable, le produit de mangue est mis à décongeler pendant 1h à température ambiante (23 °C). L'étalonnage interne est réalisé soit à partir d'une solution de nonan-4-ol¹ (30.0 µg.mL⁻¹ dans de l'eau milli-Q à 1% de méthanol¹), soit à partir d'une solution d' α -cedrène¹ (120 µg.mL⁻¹ dans du méthanol¹) suivant la richesse du profil aromatique du lot de mangues étudié. Ainsi, 1 mL de solution étalon de nonan-4-ol ou 250 µL de solution étalon α -cedrène ont été ajoutés dans le ballon d'extraction avec le produit de mangue.

Une fois l'extraction SAFE initiée, c'est-à-dire, une fois le montage SAFE fermé et la mise sous vide enclenchée, la 1^{ère} étape d'extraction consiste en l'évaporation de l'eau présente dans le ballon d'extraction A (eau-milli-Q et eau présente naturellement dans le produit de mangue). L'extraction SAFE est opérée à 45 °C et sous vide poussé (10⁻³mbar). Une fois l'évaporation de l'eau terminée, une heure d'extraction supplémentaire est observée. Au total, 2h à 2h30 d'extraction sont nécessaires pour réaliser une extraction SAFE en mode direct.

L'extrait aromatique aqueux obtenu est mis à décongeler à température ambiante (23 °C) en présence de 100 mL d'un mélange de solvants pentane/dichlorométhane² (mélange azéotropique C₅H₁₂/CH₂Cl₂, 2:1, v/v). Une extraction liquide-liquide est ensuite opérée avec une ampoule à décanter. La phase organique est mise de côté et la phase aqueuse est reprise avec deux autres volumes de 50 mL de solvant azéotropique. Les 3 extraits organiques sont ensuite réunis, séchés au sulfate de sodium anhydre, puis filtré sur coton préalablement dégraissé.

Environ 200 mL d'extrait aromatique organique sont ainsi obtenus. Celui-ci est ensuite concentré à l'aide d'un concentrateur Kuderna-Danish placé dans un bain thermostaté à 45 °C jusqu'à obtention d'environ 400 µL d'extrait. Celui-ci est à nouveau réduit à 200 µL en utilisant un faible flux d'azote gazeux. L'extrait aromatique organique du produit de mangue est ensuite directement analysé en GC-MS et est conservé à - 80 °C pour de futures analyses. L'extraction SAFE en mode direct est réitérée 3 fois pour chaque produit de mangue.

¹Références produits : nonan-4-ol (Alfa Aesar, Karlsruhe, Allemagne), méthanol et α -cedrène (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

²Références produits : pentane, dichlorométhane (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

3.4.2. Extraction des composés d'arôme par SAFE indirect

Dans un 1^{er} temps, les composés d'arôme des produits de mangue sont extraits directement par une extraction liquide-solide. Dans un erlenmeyer de 500 mL sont introduits 60 g de produit de mangue (purée fraîche ou poudre séché de mangue), 100 mL d'eau ultra pure (eau milli-Q), 100 mL d'un mélange de solvants pentane/dichlorométhane (mélange azéotrope C_5H_{12}/CH_2Cl_2 , 2:1, v/v), 30 μ g d'étalon interne en solution (soit les solutions étalons de nonan-4-ol ou d' α -cedrène décrites précédemment p 70) et un barreau aimanté. Le produit de mangue est au préalable décongelé pendant 1h à température ambiante (23 °C). L'extraction liquide-solide est réalisée pendant 30 min. à froid (erlenmeyer d'extraction plongé dans un bain de glace), sous agitation à 1000 rpm (IKA basic RH-KT/C, GmbH & Co. KG, Staufen, Allemagne) et sous atmosphère inerte grâce à l'introduction d'azote gazeux dans la cellule d'extraction.

Le mélange produit de mangue/eau/solvant obtenu est cohésif et visqueux. Celui-ci est centrifugé à 8000 rpm pendant 10 min. à 15 °C (centrifugeuse Beckman Coulter JLA-16.250 rotor, Fullerton, CA, USA). La phase organique est récupérée et le mélange pulpe de mangue/phase aqueuse est à nouveau repris en deux autres extractions liquide-solide avec 50 mL de solvant azéotrope pendant 10 min. dans les mêmes conditions d'extraction que décrites précédemment. Les 3 extraits aromatiques organiques obtenus sont ensuite réunis, séchés au sulfate de sodium anhydre, puis filtrés sur coton préalablement dégraissé.

Environ 200 mL d'extrait aromatique organique sont ainsi obtenus. Celui-ci est ensuite placé dans le ballon d'extraction SAFE (ballon A de 500 mL, Figure 21) avec un barreau aimanté et quelques grains de pierre ponce en PTFE pour réguler l'ébullition.

Tout comme décrite précédemment (p 70), l'extraction SAFE est réalisée à 45 °C et sous vide poussé (10^{-3} mbar). Une fois l'évaporation du solvant dans le ballon A terminée, une heure d'extraction supplémentaire est observée. Au total, 1h15 à 1h30 d'extraction sont nécessaires pour réaliser une extraction SAFE en mode indirect.

L'extrait aromatique organique obtenu est mis à décongeler à température ambiante (23 °C), puis est concentré dans les mêmes conditions que décrites précédemment. L'élimination du solvant est opérée au Kuderna-Danish à 45 °C, puis sous un faible flux d'azote gazeux jusqu'à obtention d'environ 200 μ L d'extrait. L'extrait aromatique organique du produit de mangue est ensuite analysé en GC-MS et est conservé à - 80 °C. L'extraction SAFE en mode indirect est réitérée 3 fois pour chaque produit de mangue.

3.5. Analyses des composés d'arôme et exploitation des résultats

3.5.1. Matériel GC-MS et programmation

Les extraits aromatiques organiques obtenus en SAFE direct et indirect sont analysés en GC-MS à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Agilent 6890 series GC (Agilent Technologies, Palo Alto, USA) équipé d'une colonne polaire DB-WAX (30 m x 0.25 mm, 0.25 μm d'épaisseur de phase polyéthylène glycol, Agilent J&W GC column) et couplé à un spectromètre de masse Agilent 5973 (Agilent Technologies, Palo Alto, USA).

Le système GC-MS est programmé au moyen du logiciel MSD Chemstation (Data Analysis software version F.01.00.1903, Agilent Technologies).

La programmation du GC-MS utilisée dans cette partie est détaillée ci-après. Pour réaliser les analyses GC-MS, le gaz vecteur utilisé est l'hydrogène (H_2) placé à un débit constant de 1.5 mL/min pendant toute la durée de l'analyse. En mode on-colonne (splitless), 1 μL d'extrait SAFE est injecté par passeur automatique (GERSTEL MPS2 autosampler, Gerstel, Baltimore, MD, USA) équipé d'une microseringue de précision de 10 μL . L'injecteur passe d'une température initiale de 45 °C à une température finale de 250 °C avec une rampe de 350 °/min. Pour séparer au mieux les composés de l'extrait, la programmation du four a été réalisée de la manière suivante :

- une température initiale de 45 °C pendant 5 min.
- une 1^{ère} rampe de température de 2 °C/min jusqu'à 115 °C.
- une 2^{ème} rampe de température de 10 °C/min jusqu'à 250 °C.
- une température finale isotherme de 250 °C pendant 10 min.

Soit une analyse chromatographique de 63.5 min. au total.

Une fois séparés, les composés passent par une ligne de transfert placée à 280 °C et sont ensuite envoyés dans la source d'ionisation du spectromètre de masse placée à 250 °C et sous vide poussé. Le mode d'ionisation choisi est l'impact électronique avec une énergie de 70 eV, les composés sont alors ionisés et fragmentés. Ces derniers sont ensuite triés suivant leur rapport masse sur charge (m/z) par un analyseur quadripolaire maintenu à 150 °C et balayant une plage de [35 à 350] m/z en mode SCAN.

3.5.2. Identification des composés d'arôme

L'identification des composés d'arôme est permise grâce à différentes données expérimentales et littéraires qui doivent se recouper.

Tout d'abord, les spectres de masse (SM) spécifiques et caractéristiques de chaque composé d'arôme sont donnés, après analyse de l'extrait SAFE, par le logiciel d'acquisition MSD Chemstation. L'identification des composés en SM repose sur les ions fragments générés en impact électronique et sur leur intensité relative comparés à une bibliothèque de référence. Ici, les SM expérimentaux ont été comparés avec la base de données NIST (National Institute of Standards and Technology, version 2.0, Gaithersburg, MD, USA).

En plus du SM, l'indice de rétention linéaire (IR) des composés d'arôme est aussi un bon outil d'identification. Une solution d'alcane linéaire, de C₈ à C₂₀ (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA), est injectée dans les mêmes conditions d'analyse GC-MS que les extraits SAFE sur mangue. L'ensemble des temps de rétention de ces hydrocarbures couvre la plage d'élution des composés d'arôme extraits en SAFE sur le chromatogramme. Les IR des composés d'arôme sont ensuite calculés avec la formule suivante (cas de programmation linéaire en température) (4) :

$$(4) \quad IR(i) = 100 \times \frac{t_R(i) - t_R(n)}{t_R(n+1) - t_R(n)} + 100 \times n$$

Avec :

- IR(i), l'indice de rétention propre au composé d'arôme i (sans unité)
- $t_R(i)$, le temps de rétention propre au composé i observé sur le chromatogramme (min)
- $t_R(n)$, le temps de rétention de l'alcane à n carbone précédant l'élution du composé i sur le chromatogramme (min)
- $t_R(n+1)$, le temps de rétention de l'alcane à n+1 carbone précédé de l'élution du composé i sur le chromatogramme (min)

L'IR expérimental des composés ainsi calculé est ensuite comparé à des bases de données (Flavornet, 2004; NIST, 2011; Pherobase, 2014; The LRI and Odour Database, 2006) ou à des publications ayant utilisé une colonne de polarité identique aux expériences menées (colonne polaire DB-WAX).

L'injection de molécules standards pures dans les mêmes conditions d'analyse GC-MS que les extraits SAFE sur mangue permet également d'appuyer l'identification d'un composé. En effet, si la molécule standard et le composé de l'extrait SAFE ont des SM et IR identiques alors l'identification est validée.

Les molécules standards utilisées pour avérer l'identification des produits de mangue sont les suivantes : 2-méthyl-propan-1-ol, butan-1-ol, 2-phényléthanol, heptanal, nonanal, (*E,Z*)-nona-2,6-diéнал, benzaldéhyde, 3-hydroxybutan-2-one, 4-hydroxy-4-méthylpentan-2-one, butanoate de 3-méthylbutyle, β -pinène, α -pinène, δ -3-carène, camphène, β -myrcène, limonène, α -phellandrène, β -phellandrène, β -ocimène (isomères), α -terpinène, γ -terpinène, α -terpinolène, α -gurjunène, β -caryophyllène, α -caryophyllène, p-cymène et toluène de chez Sigma Aldrich (Steinheim/Germany ou St. Louis/MO/USA) ; hexanal, 2-méthylbutan-1-ol, 5-méthylfurfural, octan-1-ol et β -ionone de chez Fluka Analytical (Steinheim, Germany) ; pentan-2-ol, 3-méthylbutan-1-ol, butanoate de butyle, butanoate de 3-méthylbutanol, (*Z*)-3-hexèn-1-ol, furfural, γ -butyrolactone et γ hexalactone de chez Interchim (Montluçon, France) ; δ -octalactone de chez Fabster (Angerville, France) ; o-xylène de chez Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany) ; (*E*)-3-hexèn-1-ol de chez Sarsynthex (Merignac, France) ; hexan-1-ol de chez SBI Sanofi (Grasse, France).

3.5.3. Quantification des composés d'arôme

L'utilisation d'étalons internes a permis d'obtenir des résultats semi-quantitatifs et d'évaluer ainsi la proportion des composés d'arôme dans les produits de mangue de l'étude. Les étalons nonan-4-ol et α -cedrène ont été choisis pour le fait qu'ils ne sont pas présents naturellement dans les matrices de fruits étudiées, ne présentent pas de coélution avec d'autres composés aromatiques et appartiennent à la plage d'élution de l'ensemble des composés observés en GC-MS.

Les composés d'arôme des produits de mangue sont semi-quantifiés au moyen de la formule suivante (5) :

$$(5) \quad C_i = C_e \times \frac{A_i}{A_{EI}} \times K_{i/EI}$$

Avec :

- C_i , la concentration du composé i dans le produit de mangue étudié (en μg équivalent d'étalon interne par kg de matière sèche produit, $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de MS)
- C_e , la concentration d'étalon interne introduite dans l'échantillon de mangue en amont de l'extraction (en μg par kg de matière sèche produit, $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de MS)
- A_i , l'aire sous pic chromatographique (TIC¹) du composé i obtenu en GC
- A_{EI} , l'aire sous pic chromatographique (TIC¹) de l'étalon interne obtenu en GC
- $K_{i/EI}$, le coefficient de réponse du composé i par rapport à l'étalon interne en GC-MS. En semi-quantification, $K_{i/EI}$ est égale à 1 pour tous les composés.

3.5.4. Analyses statistiques

Les résultats semi-quantitatifs obtenus ont été soumis à des analyses de la variance (ANOVA) avec un test de Tukey HSD et un risque α de 5 % au moyen du logiciel XLSTAT (version 2015.6.01, Addinsoft, Paris, France) afin de discriminer les profils aromatiques des produits frais (purée et cubes) et des produits séchés (poudre et cubes) pour voir l'impact du séchage sur les composés d'arôme de la mangue.

¹ TIC (total ion current) : somme du signal émis par tous les ions en SM en mode SCAN entre 35 et 350 m/z

3.5.5. Le potentiel odorant des composés d'arôme et autres données scientifiques

D'autres données expérimentales et littéraires ont été utilisées pour enrichir les résultats obtenus sur l'identification et la semi-quantification des composés d'arôme des produits de mangue.

Ainsi, le nombre d'unité d'odeur (OAV, *odour activity value*) des composés a été calculé au moyen de la formule suivante (6) :

$$(6) \quad OAV_i = \frac{C_i}{SDO_i}$$

Avec :

- OAV_i , le nombre d'unité d'odeur du composé i (sans unité)
- C_i , la concentration du composé i dans le produit de mangue (μg de composé i par kg de produit, $\mu\text{g}.\text{kg}^{-1}$)
- SDO_i , le seuil de détection olfactive du composé i dans la matrice d'intérêt ou dans une matrice modèle proche (en $\mu\text{g}.\text{kg}^{-1}$). Dans notre cas, les SDO utilisés pour les calculs d'OAV sont extraits de publications sur mangue et ont été établis dans de l'eau par les auteurs.

Les composés d'arôme dont l'OAV est supérieure à 1 ont pu être considérés comme potentiellement impactant pour la saveur des produits de mangue.

En complément de l'OAV, les propriétés physicochimiques des composés d'arôme tels que le coefficient de partage octanol/eau ($\log P(o/w)$) et la constante de Henry (HLC) ont été calculés au moyen du logiciel EPISuite (EPISUITE software, version 4.11) pour discuter les résultats obtenus en SAFE. Le $\log P$ a permis de décrire l'hydrophobicité des composés et la HLC a permis de décrire la volatilité des composés.

Partie 3 : Étude de la libération des composés d'arôme en condition *in vivo* par SPME/GC-MS

Une des techniques utilisée au cours de ces travaux de thèse pour étudier la libération des composés d'arôme au cours de la consommation des produits de mangue sur des sujets humains est la SPME *in vivo* couplée à la GC-MS.

Cette méthode a déjà été mise en place par Estelle Pionnier *et al.* lors de précédents travaux sur fromages aromatiques modèles (Pionnier, Chabanet, *et al.*, 2004; Pionnier, Sémon, *et al.*, 2005). Le matériel et le protocole décrits pour cette méthode ont été modifiés et réadaptés pour l'étude de thèse.

3.6. Les montages SPME *in vivo*

Deux montages SPME *in vivo* ont été fabriqués pour les travaux de thèse : un montage SPME *in vivo* en « T » et un montage SPME *in vivo* en « T » avec restriction. Ces derniers sont présentés en figure ci-contre (Figure 22, ci-contre). Des schémas détaillés de ces montages sont également présentés en annexe (Annexe 1, p 225).

Ces montages sont équipés :

- d'un port olfactif en verre. Plusieurs ports olfactifs sont proposés aux panelistes suivant la forme de leur nez.
- d'une tige en verre en « T » avec ou sans restriction (liner en verre). Cette tige constitue « la cellule d'extraction » des composés d'arôme au cours de la consommation des produits de mangue.
- d'un bouchon septum permettant d'insérer une fibre SPME au sein de la tige d'extraction.
- En fin de montage peut être placée une pompe d'aspiration. Dans ce cas, une vanne fine et un débitmètre numérique (ADM 2000, Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA) permettent d'ajuster le débit d'aspiration de la pompe.

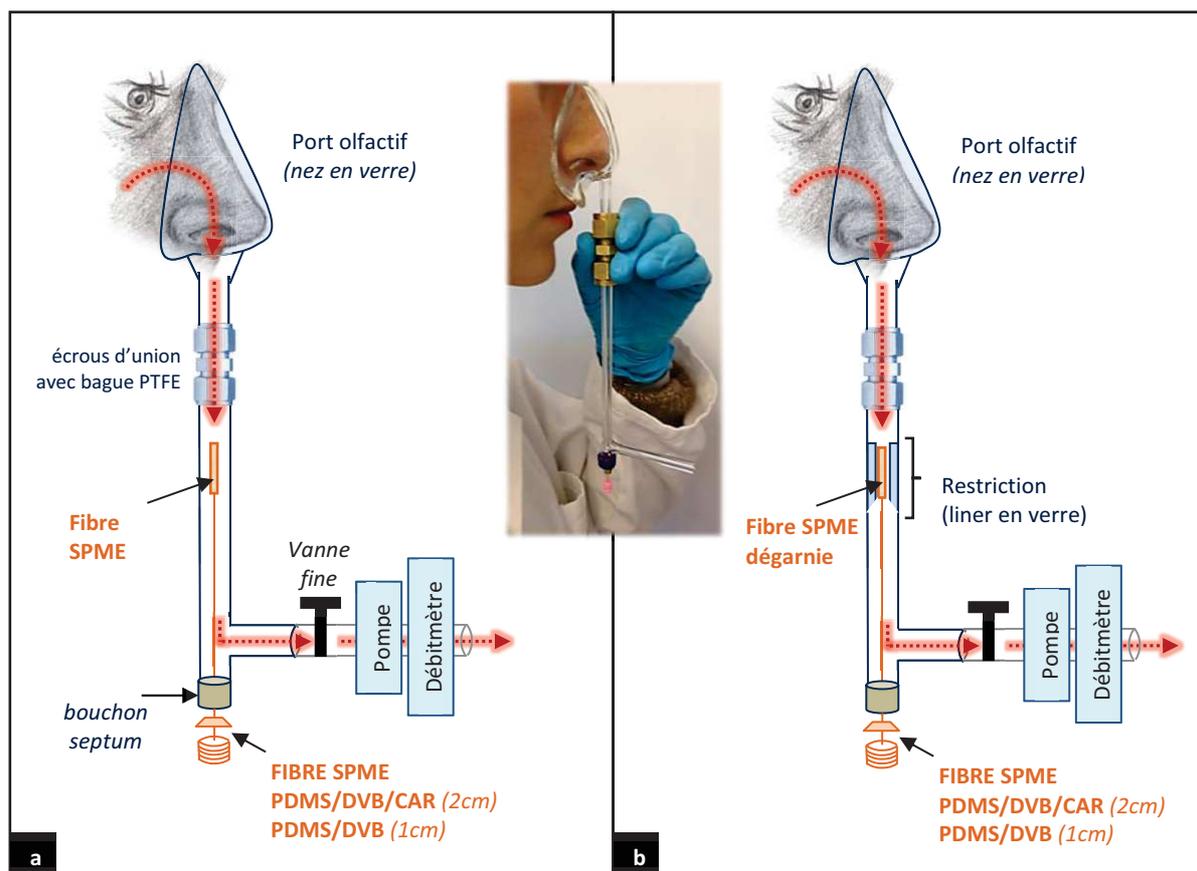


Figure 22. Les montages (a) SPME *in vivo* en « T » et (b) SPME *in vivo* en « T » avec restriction utilisés pour l'étude de la libération des composés d'arôme au cours de la consommation des produits de mangue.

3.7. Protocoles de dégustation des produits et d'extraction des composés d'arôme en SPME *in vivo*

3.7.1. Choix d'une fibre SPME

Dans les précédents travaux réalisés sur mangue en SPME (Lalel, Singh, *et al.*, 2003a, 2003b; Liu, Grauwet, *et al.*, 2014; Menezes Filho, dos Santos, *et al.*, 2010), il n'apparaît pas qu'une fibre soit préférée à une autre parmi les phases : polydiméthylsiloxane (PDMS), carboxen (CAR), divinylbenzène (DVB), polyacrylène (PA), diphasée (PDMS/DVB, CAR/PDMS) et triphasée (DVB/CAR/PDMS).

Ainsi, 4 fibres SPME ont été testées en conditions *in vitro* sur purée de mangue afin de choisir la phase SPME la plus adéquate pour les expériences à mener en conditions *in vivo*. Les fibres SPME testées sont présentées dans le tableau ci-contre (Tableau 5).

Tableau 5. Fibres SPME testées pour les expériences SPME *in vivo*.

Fibre		Épaisseur de phase (µm)	Référence fabricant*	Type de polarité*
Code	Phase			
Fibre A	PDMS/DVB	65	57327-U (1cm)	Bipolaire, réticulée
Fibre B	PDMS	100	57301 (1cm)	Apolaire, non-greffée
Fibre C	PDMS/CAR	85	57335-U (1cm)	Bipolaire, réticulée
Fibre D	DVB/CAR/PDMS	50/30µm	57329-U (2cm)	Bipolaire, hautement réticulée

*Supelco, Bellefonte, PA, USA

Le potentiel d'extraction de chaque fibre pour les composés volatils de mangue a été évalué avec le protocole SPME *in vitro* décrit ci-après.

La purée de mangue utilisée pour ces tests en SPME *in vitro* est la même purée que décrite précédemment (lot de 9 mangues Kent, Côtes d'Ivoire, p 69). Dans un vial de 10 mL sont introduits 1 g de purée de mangue et 150 µL de solution étalon (nonan-4-ol et α -cedrene à 0.83 µg/mL dans de l'eau milli-Q à 0.5% MeOH). Un vial de 10 mL contenant 1g d'eau milli-Q et 150 µL de solution étalon (nonan-4-ol et α -cedrene) a également été utilisé pour réaliser un blanc d'extraction pour chaque fibre SPME.

Dans un 1^{er} temps, les échantillons de mangue en vial ont subi une phase d'équilibre de 10 min. à 37 °C avec une agitation de 250 rpm. Puis, les composés volatils ont été extraits par SPME pendant 30 min. à 37 °C avec une agitation de 250 rpm. Les étapes d'équilibre et d'extraction ont été réalisées par passeur automatique (GERSTEL MPS Autosampler). La température de 37 °C choisie pour ce protocole simule les conditions physiologiques orales de dégustation chez un sujet humain pour se rapprocher au mieux des conditions d'extraction attendues en SPME *in vivo*. Les composés volatils extraits en SPME ont ensuite été thermodésorbés et analysés en GC-MS. Le matériel et la programmation GC-MS utilisés sont décrits ci-après (cf. Partie 3, §3.8.1, p 82).

Les extractions SPME *in vitro* test suivies des analyses GC-MS ont été réalisées 4 fois pour chaque fibre SPME à tester.

3.7.2. Tests menés en SPME *in vivo*

Pour établir un protocole SPME *in vivo* exploitable pour l'étude de la libération des composés d'arôme pendant dégustation, plusieurs tests ont été réalisés pour définir les paramètres de dégustation et d'extraction à utiliser pour l'étude des produits de mangue.

a) Protocole de dégustation des produits

Les tests menés en SPME *in vivo* ont été réalisés en 1^{er} lieu sur de la purée de mangue industrielle (compote pomme/mangue aromatisée, *Charles & Alice*, pot individuel).

Il a été demandé à deux panelistes (2 femmes) de consommer 10g de purée industrielle, la bouche fermée, en inspirant et expirant au travers du port olfactif des montages SPME *in vivo*.

Pour chaque paneliste, 2 protocoles de dégustation ont été testés. Pour le 1^{er} protocole, les panelistes ont mastiqué 32 sec. la purée équipés du montage SPME *in vivo*. Puis après avoir avalé le produit, les panelistes sont restés 32 sec. de plus sur le montage SPME *in vivo*. Au total, une extraction SPME *in vivo* de 1 min. a donc été réalisée. Pour le 2nd protocole, les panelistes ont mastiqué 1 min. la purée puis sont restés 1 min. de plus avec le montage SPME *in vivo*. Au total, une extraction SPME *in vivo* de 2 min. a donc été réalisée.

Il a été demandé aux panelistes de respirer (inspiration/expiration) et de mastiquer, la bouche fermée, le plus naturellement possible au cours de ces expériences *in vivo* (cycles de mastication et de respiration propres à chaque sujet).

En amont des dégustations, les panelistes se présentent à jeun d'au moins 1 heure. De plus, un « blanc de l'air » des sujets est également réalisé avant dégustation produit. Pour cela, l'extraction des blancs est équivalente en temps aux dégustations réalisées, soit des blancs de 1 min. ou 2 min.

b) Protocole d'extraction des composés d'arôme par SPME *in vivo*

Les montages SPME *in vivo* ont été utilisés avec et sans pompe d'aspiration. Dans le cas des tests avec pompe, un débit d'extraction de 200mL/min a été utilisé. Le fait de placer une pompe en aval de la fibre permet de réguler le flux d'extraction. Le choix du débit a été établi suivant les débits couramment utilisés en extraction par trapping et en ne gênant pas l'expiration des sujets.

Seules les fibres SPME qui se sont avérées les plus efficaces lors des tests en SPME *in vitro* ont été utilisées en condition *in vivo*.

3.8. Analyses des composés d'arômes et exploitation des résultats

3.8.1. Matériel GC-MS et programmation

Les composés d'arôme extraits en SPME *in vitro* et *in vivo* ont été thermodésorbés et analysés au moyen d'un chromatographe en phase gazeuse Agilent 6890 (Agilent Technologies, Palo Alto, USA) équipé d'une colonne polaire DB-WAX (30 m x 0.25 mm, 0.25 μm d'épaisseur de phase polyéthylène glycol, Agilent J&W GC column) et couplé à un spectromètre de masse Agilent 5973 (Agilent Technologies, Palo Alto, USA).

Le système GC-MS est programmé au moyen du logiciel MSD Chemstation (Data Analysis software version F.01.00.1903, Agilent Technologies).

La programmation GC-MS utilisée dans cette partie est détaillée ci-après. Les composés sont thermodésorbés à 250 °C pendant 1 min., puis sont injectés en mode splitless. Les analyses GC ont été réalisées avec un débit d'hydrogène constant à 1.5ml/min. La programmation du four compte un isotherme de 45 °C pendant 5 min., puis une rampe de température de 2 °C/min jusqu'à 115 °C, suivie d'une 2^e rampe de 10 °C/min jusqu'à 250 °C, et enfin un dernier plateau isotherme à 250 °C pendant 10 min. Soit un temps d'analyse GC de 63.5 min. L'analyse en SM compte une ionisation des composés en impact électronique (250 °C, 70 eV) et une sélection des ions fragment sur une plage de [35 à 350] m/z en mode SCAN par analyseur quadripolaire maintenu à 150 °C.

3.8.2. Exploitation des résultats

L'identification des composés en SPME *in vitro* et *in vivo* est permise par recoupement des données expérimentales et littéraires obtenues sur le SM des composés comparés à la bibliothèque NIST (National Institute of Standards and Technology, version 2.0, Gaithersburg, MD, USA) et à l'IR des composés comparé à des bases de données (Flavornet 2004, The LRI and Odour Database 2006, NIST 2011, Pherobase 2014) ou à des publications sur colonne DB-WAX. L'injection de molécules standards a également été réalisée en GC-MS pour certifier de l'identification des composés observés.

En SPME *in vitro*, les étalons internes nonan-4-ol et α -cedrène ont permis de suivre l'évolution de l'extractabilité des fibres SPME entre les différentes répétitions (vieillessement des fibres). Le potentiel d'extraction des fibres SPME a été calculé au moyen des formules suivantes (7, 8) :

$$(7) \quad P(i, F_j) = \frac{A(i, F_j)}{\sum A(i, F)} \times 100$$

$$(8) \quad P(F_j) = \frac{\sum A(F_j)}{\sum A(F)} \times 100$$

Avec :

- $P(i, F_j)$, le potentiel d'extraction de la fibre j pour le composé i vis-à-vis des autres fibres SPME testées
- $A(i, F_j)$, l'aire sous le pic chromatographique (TIC¹) du composé i pour la fibre j
- $\sum A(i, F)$, la somme des aires sous le pic chromatographique (TIC¹) du composé i pour toutes les fibres
- $P(F_j)$, le potentiel d'extraction de la fibre j vis-à-vis des autres fibres SPME testées pour tous les composés d'arôme identifiés
- $\sum A(F_j)$, la somme des aires sous le pic chromatographique (TIC¹) de tous les composés d'arôme identifiés pour la fibre j
- $\sum A(F)$, la somme des aires sous le pic chromatographique (TIC¹) de tous les composés d'arôme identifiés pour toutes les fibres

¹ TIC (total ion current) : somme du signal émis par tous les ions en SM en mode SCAN entre 35 et 350 m/z

Les résultats obtenus en SPME *in vitro* ont été soumis à des analyses de la variance (ANOVA) avec un test de Tukey HSD et un risque α de 5 % au moyen du logiciel XLSTAT (version 2015.6.01, Addinsoft, Paris, France) afin de discriminer le potentiel d'extraction de chaque fibre vis-à-vis des composés volatils de la mangue.

Partie 4 : Étude de la libération des composés d'arôme en condition *in vivo* par RATD/GC-MS

La 2^{ème} méthode utilisée pour étudier la libération des composés d'arôme au cours de la dégustation des produits de mangue est la technique RATD couplée à la GC-MS. L'extraction RATD a déjà été utilisée dans certains travaux notamment en conditions *in vivo* sur matrices modèles (Buettner & Schieberle, 2000a; Delahunty, Piggott, *et al.*, 1996; Ingham, Linforth, *et al.*, 1995; Muñoz-González, Rodríguez-Bencomo, *et al.*, 2014). Ici, la technique a été reprise et réadaptée pour les travaux de thèse.

Certains paramètres d'extraction et de dégustation ont été optimisés et testés, tandis que d'autres paramètres ont été fixés dès le départ après lecture de précédents travaux ou bien après des tests simples et rapides (non décrits dans le présent manuscrit).

Le protocole RATD/GC-MS mis en place, et décrit dans cette partie, a permis d'étudier l'impact de la matrice des produits de mangue sur la libération des composés d'arôme en condition *in vivo* lors de leur consommation par un panel.

3.9. Les montages RATD

Deux montages RATD ont été mis en place au laboratoire : le montage RATD simple et le montage RATD double. Ces derniers sont présentés dans la figure ci-contre (Figure 23) et détaillés en annexe (Annexe 2, p226).

Le montage RATD simple compte :

- un port olfactif en verre. Plusieurs ports olfactifs sont proposés aux panelistes afin qu'ils puissent choisir le nez en verre le plus adapté à la morphologie de leur propre nez. En effet, le sujet ne doit pas ressentir de gênes pour expirer/inspirer au travers du dispositif.
- Un polymère adsorbant conditionné en tube (Tenax TA).
- En fin de montage sont placés une vanne fine, un débitmètre numérique (ADM 2000, Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA) et une pompe d'aspiration. La vanne et le débitmètre permettent d'ajuster le débit d'extraction de la pompe.

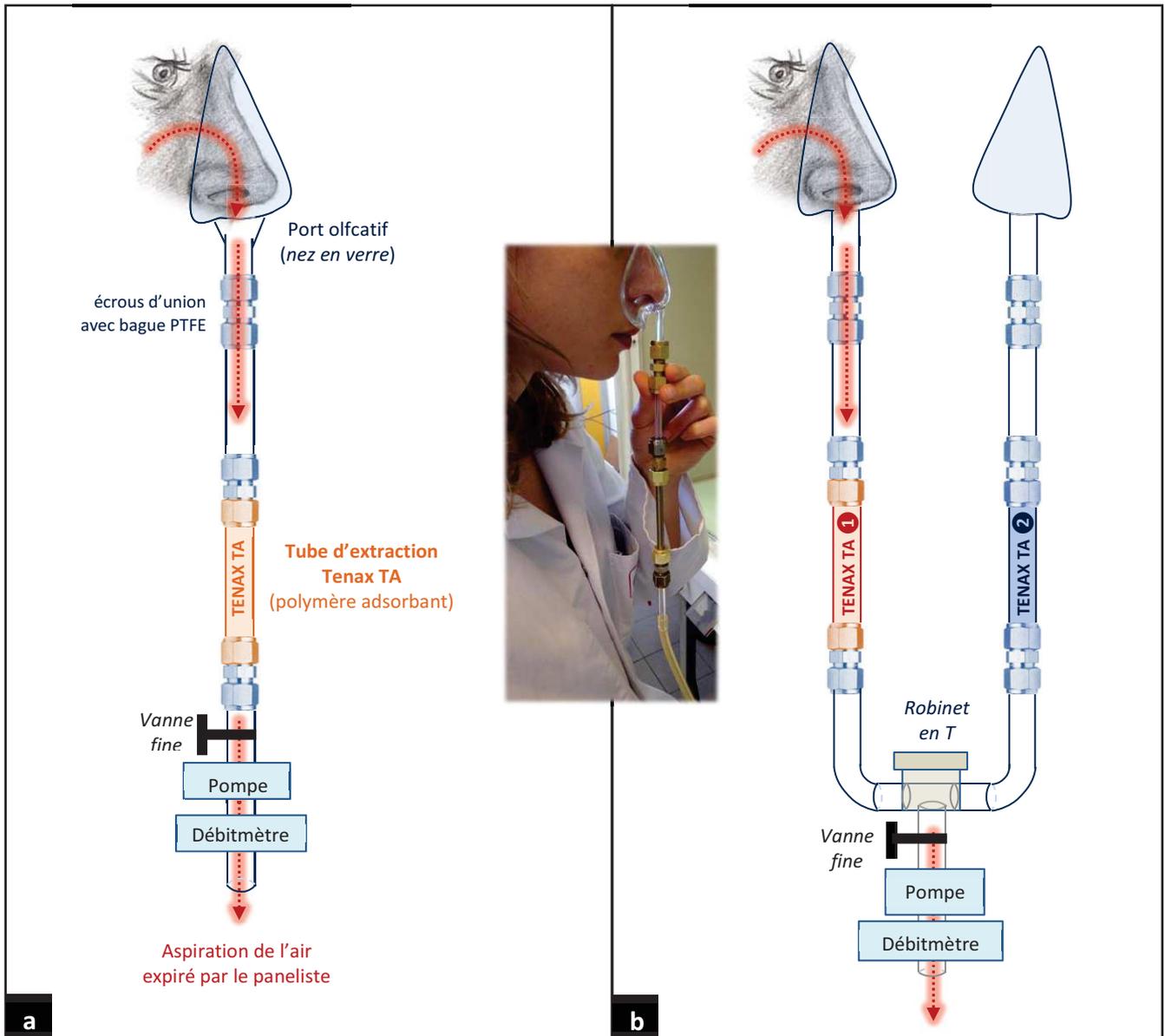


Figure 23. Les montages (a) RATD simple et (b) RATD double utilisés pour l'étude de la libération des composés d'arôme au cours de la consommation des produits de mangue.

Le montage RATD double est, quant à lui, équipé de 2 montages RATD simples montés en parallèle et connectés en leur fin par un robinet en « T ». Le montage RATD double permet ainsi de réaliser une extraction *in vivo* en deux temps avec 2 tubes Tenax différents. Dans notre cas, le montage RATD double a permis de découpler la phase de mastication avec la phase post-déglutition lors de la dégustation des produits de mangue.

3.10. Le panel RATD

Un panel de 8 personnes (3 femmes et 5 hommes) a été constitué pour réaliser les expériences *in vivo*. Ces personnes sont non-fumeuses et ont une expérience en analyse sensorielle au travers de divers aliments dont la mangue. Ces 8 panelistes ont été recrutés en interne (agents de l'UMR Qualisud) et ont été choisis en fonction de leurs disponibilités et de l'intérêt qu'ils ont porté à l'étude menée.

3.11. Protocole de dégustation des produits et d'extraction des composés d'arôme en RATD

3.11.1. Organisation d'une session de dégustations produits

La figure ci-dessous (Figure 24) présente l'organisation d'une session de dégustations pour un produit de mangue donné.

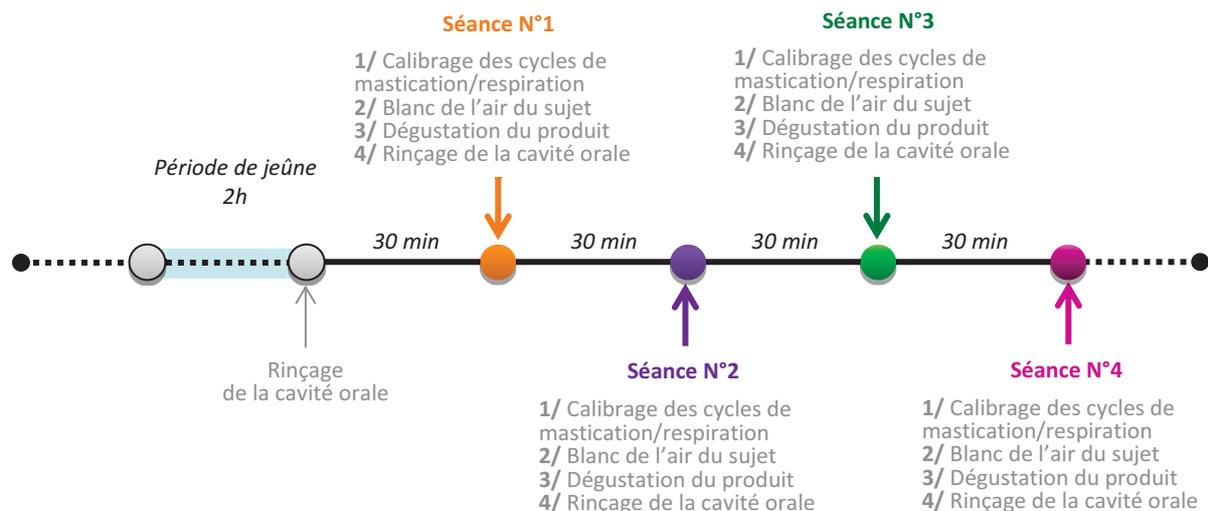


Figure 24. Présentation d'une session de dégustations pour un produit de mangue donné.

Une session de dégustations est organisée par produit de mangue et par panéliste. Soit, avec 4 produits de mangue à déguster (purée fraîche, cubes frais, poudre séchée et cubes séchés) et 8 panélistes, au total, 32 sessions de dégustations ont donc été menées.

Une session compte 4 séances de dégustations produits successives réalisées en matinée par intervalle de 30 min. (soit 4 répétitions).

Chaque séance de dégustation respecte 4 points de protocole :

- Le calibrage des cycles de respiration et de mastication des panélistes (cf. §3.11.5.b) et §3.11.5.c, p 93) à l'aide d'animations visuelles.
- Le blanc de l'air des panélistes avant dégustation du produit avec le dispositif RATD (cf. §3.11.5.a), p 92).
- La dégustation du produit de mangue avec l'extraction des composés d'arôme par le dispositif RATD.
- Le rinçage de la cavité orale du sujet après dégustation (cf. §3.11.2.d)i), p 89) et les temps de repos entre dégustation (cf. §3.11.2.d)ii), p 90) pour un retour à une physiologie orale de repos avant chaque dégustation.

3.11.2. Les dégustations des produits de mangue

a) Matière première : les produits de mangue de l'étude

Un lot de mangues Kent en provenance de Côte d'Ivoire (50 mangues, indice de fermeté $40 < ID < 65$) a été utilisé pour fabriquer les produits de mangue frais et séchés pour l'étude de la libération des composés d'arôme en condition *in vivo* par RATD/ GC-MS. Le protocole de fabrication utilisé pour la confection de ces produits est le même que décrit précédemment (Partie 1, §3.2, p 62).

b) La période de dégustation

Pour que les panélistes réalisent les sessions dans de bonnes conditions et dispositions, les dégustations ont été réalisées le matin, sur une plage horaire de 2h, entre 8h30 et 12h. Chaque panéliste a réalisé ses dégustations toujours aux mêmes horaires et en fonction de ses disponibilités. Pour la majorité des panélistes, les sessions se sont opérées entre 9h30 et 11h30.

Il a été demandé aux panélistes de ne pas manger et boire de boissons aromatiques 2h avant convocation à la session de dégustation. Le but de cette période de jeûne de 2h étant que le sujet arrive à la session avec une cavité orale neutre en arôme et une physiologie orale dite de repos. Soit, pour un début de session à 9h30 (1^{er} rinçage de la cavité orale), le panéliste se devait d'avoir fini son petit déjeuner et de se laver les dents à 7h30.

c) Les prises alimentaires

Lors d'une dégustation produit, 10 g de produits frais (purée ou cubes) ou, en équivalent matière sèche, 3 g de produits séchés (poudre ou cubes) sont donnés au sujet. Cette quantité de produit a été choisie arbitrairement au cours des tests d'optimisation du protocole (quantité moyenne pour laquelle les panélistes n'ont pas montré de gêne lors des dégustations avec les exercices demandés).

En amont des sessions de dégustation, les produits de mangue sont décongelés au frigo pendant 2h. Les produits sont ensuite servis aux panélistes dans une cuillère à soupe de dégustation et à une température produit de 10-12 °C (sortie du frigo).

d) Les répétitions de dégustations produits

Une seule prise alimentaire est réalisée par séance de dégustation. Pour faire des répétitions, c'est-à-dire plusieurs dégustations du produit, le panéliste ne prend pas consécutivement des prises alimentaires. En effet, une procédure de rinçage de la cavité orale et un temps de repos sont respectés afin de permettre le retour à une neutralité aromatique en bouche et à une physiologie orale de repos.

i) Rinçage de la cavité orale après dégustation produit

Après avoir dégusté le produit de mangue, le panéliste réalise un rinçage de la cavité orale en suivant le protocole décrit ci-après. Ce rinçage permet d'éliminer, le plus possible, les composés d'arôme qui tapissent les parois de la cavité orale pour un retour à une neutralité aromatique en bouche.

Huit volumes d'eau minérale *Volvic* de 30 mL sont présentés au panéliste dans des gobelets en plastique. Le panéliste prend un 1^{er} volume d'eau entier qu'il fait tourner en bouche, comme un bain de bouche, puis qu'il recrache. Le panéliste prend ensuite un 2^{ème} volume d'eau entier qu'il fait tourner en bouche, puis qu'il avale. Le panéliste alterne ainsi de suite les bains de bouche à recracher et à avaler jusqu'à épuiser les 8 volumes d'eau.

ii) *Temps de repos entre les dégustations produits et physiologie orale des panélistes*

Après avoir dégusté le produit de mangue (1 prise alimentaire soit 10 g de produit frais ou bien 3 g de produit séché), la physiologie orale du sujet change, notamment au niveau de la quantité et de la composition de la salive sécrétée en bouche. Ce changement physiologique peut entraîner des biais dans la libération des composés d'arôme au cours de la dégustation produit (Doyennette, Déléris, *et al.*, 2011; Engelen, de Wijk, *et al.*, 2003).

Ainsi, pour réaliser des dégustations produits qui soient comparables entre elles, la physiologie orale du sujet doit donc être la même pour chaque dégustation.

La physiologie orale qui a été recherchée pour chaque dégustation produit est la physiologie orale dite de repos. Cette physiologie s'oppose à la physiologie orale dite stimulée ou rincée où les sujets sentent, boivent ou mastiquent un aliment en amont de l'expérience.

Pour obtenir cette physiologie orale de repos, un temps de repos a donc été respecté entre chaque dégustation où le sujet a eu interdiction de boire et de manger. Un *test des temps de repos* a été réalisé pour déterminer le temps de repos le plus adéquat à appliquer pour l'étude RATD (tests sur 30 min. et 1h de temps de repos, cf. Partie 4, §3.12.3, p 101).

iii) *Nombre de répétitions*

Pour ne pas alourdir le protocole et pour mobiliser les panélistes sur une plage de temps convenable, un nombre de 4 dégustations produit a été choisi. Ces 4 répétitions permettent ainsi d'obtenir suffisamment de données pour exploiter convenablement les résultats d'un point de vue statistique.

3.11.3. L'extraction des composés d'arôme en RATD

a) **Choix du polymère adsorbant**

Le polymère adsorbant choisi pour appliquer la technique RATD est le Tenax TA au vue de précédents travaux réalisés en P&T sur mangue et sur fruits tropicaux aux composés d'arôme semblables à ceux de la mangue (Augustyn, Botha, *et al.*, 2010; Cosse, Todd, *et al.*, 1995; Junwei, Kye-Chung, *et al.*, 2003; Torres, Chiralt, *et al.*, 2012; Vodovotz, Arteaga, *et al.*, 1993). Le format de présentation du polymère (taille des pores, quantité de polymère) a

également été choisi en fonction des données de la littérature. Ainsi des tubes Tenax TA conditionnés dans des tubes en acier inoxydable (200 mg Tenax Ta, 60-80 mesh¹, réf. N9307054, Perkin Elmer, CT, USA) ont été choisis pour réaliser les expériences *in vivo*.

b) Choix du débit d'extraction

Le débit d'extraction (ou d'aspiration) des composé d'arôme par la pompe a été fixé à 500mL/min. Ce débit permet aux panelistes d'être à l'aise avec le dispositif RAD au cours des exercices de dégustation demandés (facilité du dégustateur à expirer/inspirer au travers du montage sans ressentir de gênes). Pour s'assurer que le débit utilisé n'est pas trop fort et qu'il ne génère pas une perte des composés d'arôme extraits par le tube Tenax au cours de la dégustation produit, un *test des tubes en série* a été réalisé (cf. Partie 4, §3.12.2, p 100).

3.11.4. Le temps de dégustation des produits et d'extraction des composés d'arôme en RATD

a) Le temps de dégustation des produits

Le temps de dégustation choisi pour les expériences à mener en RATD sur les 4 produits de mangue est inspiré de la littérature (Frank, Eyres, *et al.*, 2012; Ting, Romano, *et al.*, 2016), mais aussi de choix arbitraires du fait de la nature des produits alimentaires donnés aux panélistes.

Les produits frais de mangue demandent à être peu mastiqués avant d'être avalés. À l'inverse, les produits séchés sont très denses et collants car très sucrés et demandent à être bien mastiqués avant d'être ingérés. Le temps de dégustation choisi est donc un temps intermédiaire où produits frais et produits séchés peuvent être travaillés en bouche convenablement avant d'être avalés.

Au cours de la dégustation d'un produit, il a donc été demandé aux panélistes de mastiquer le produit pendant 32 sec., sans déglutir, en gardant la bouche fermée et en inspirant/expirant au travers du port olfactif du montage RATD. À l'issue de cette période de mastication, le sujet avale le produit en une seule fois la bouche fermée (4 sec. accordées pour la déglutition). Puis, le panéliste reste sur le dispositif RATD encore 32 sec. de plus, sans mastiquer, en gardant la bouche fermée et en inspirant/expirant au travers du port

¹ Taille des pores : 60 mesh (250 µm) ; 80 mesh (177 µm).

olfactif. Au final, une dégustation produit de 68 sec. est opérée avec une phase de mastication de 32 sec., une phase de déglutition de 4sec. et une phase post-déglutition de 32 sec.

Au cours de ces 68 sec. de dégustation, le panéliste mastique le produit et respire au travers du montage RATD en suivant une animation visuelle qui standardise les cycles de respiration et de mastication du sujet (cf. §3.11.5.b), p 93).

b) Le temps d'extraction des composés d'arôme en RATD

Dans le cas du montage RATD simple, les composés d'arôme relargués par voie rétronasale par le panéliste au cours de la dégustation du produit sont extraits sur 1 seul tube Tenax pendant 68 sec. avec un débit d'extraction de 500mL/min.

Pour ce qui est du montage RATD double, les composés d'arôme libérés pendant la phase de mastication sont extraits avec un 1^{er} tube Tenax (32 sec. d'extraction). Puis, les composés d'arôme libérés pendant déglutition et la phase post-déglutition sont extraits avec un 2^{ème} tube Tenax (4sec. + 32 sec. d'extraction). Ces extractions *in vivo* sont réalisées avec un débit d'extraction de 500mL/min.

3.11.5. Précautions prises pour les dégustations produits et l'extraction des composés d'arôme en RATD

a) Le blanc de l'air des sujets

Avant chaque dégustation produit, un blanc de l'air des sujets est réalisé. En effet, les sujets, même à jeun, relarguent naturellement des composés d'arôme comme de l'éthanol, de l'acétone, certains terpènes ou encore des furanes dans le cas de sujets fumeurs (Miekisch, Schubert, *et al.*, 2004; Sanchez & Sacks, 2006). Afin de ne prendre en compte que les composés réellement relargués par la matrice alimentaire lors de sa consommation par les panélistes, l'étude de l'air naturellement émis par le sujet avant dégustation est donc indispensable.

Pour ce faire, il est demandé au panéliste de se placer sur le port olfactif du montage RATD, d'inspirer et d'expirer au travers, sans mastiquer et en gardant la bouche fermée. Les composés d'arôme relargués naturellement dans l'air expiré par le sujet sont alors extraits pendant 1 min. (équivalent au temps total de dégustation produit quel que soit le montage RATD simple ou double utilisé) avec un débit d'extraction de 500mL/min.

b) Les animations visuelles RATD pour calibrer les cycles de respiration et de mastication des panélistes

Au cours de la consommation d'un produit alimentaire, les sujets mastiquent et respirent suivant un rythme qui leur est propre, mais aussi, qui peut être variable pour un même individu suivant le type d'aliment, le contexte du repas, etc.

Ces différences physiologiques de dégustation intra et inter-individus peuvent grandement influencer la libération *in vivo* des composés d'arôme et introduire des biais non désirés dans les résultats obtenus (sujet non répétable, effet sujet important, etc.), (Ting, Romano, *et al.*, 2016; Ting, Soukoulis, *et al.*, 2012).

Ainsi, à l'image des travaux de Frank et al. (Frank, Appelqvist, *et al.*, 2011; Frank, Eyres, *et al.*, 2012), des animations visuelles RATD ont été créées pour calibrer les cycles de respiration et de mastication des panélistes au cours de la consommation des produits de mangue.

i) *L'animation visuelle de calibration*

L'*animation visuelle de calibration* est utilisée avant chaque dégustation produit afin de bien calibrer le panéliste et ne pas biaiser les expériences en RATD.

L'animation de calibration compte 2 exercices qui sont présentés dans la figure ci-contre (Figure 25). Un 1^{er} exercice consiste à calibrer la respiration du sujet avec, une inspiration de 2 sec. et une expiration de 2 sec., soit un cycle de respiration de 4 sec. à répéter 8 fois (exercice de 32 sec. au total). Quant au 2^e exercice, celui-ci permet de calibrer la respiration et la mastication du sujet avec, une inspiration de 2 sec. incluant 2 mâchements et une expiration de 2 sec. incluant 2 mâchements, soit un cycle de respiration/mastication de 4 sec. à répéter 8 fois (exercice de 32 sec. au total). Ces 2 exercices de calibration sont à réaliser la bouche fermée et sans déglutition.

Une fois que le sujet est à l'aise et en rythme avec ces 2 exercices de calibration, alors le panéliste est prêt à réaliser le blanc de l'air sujet et la dégustation produit.

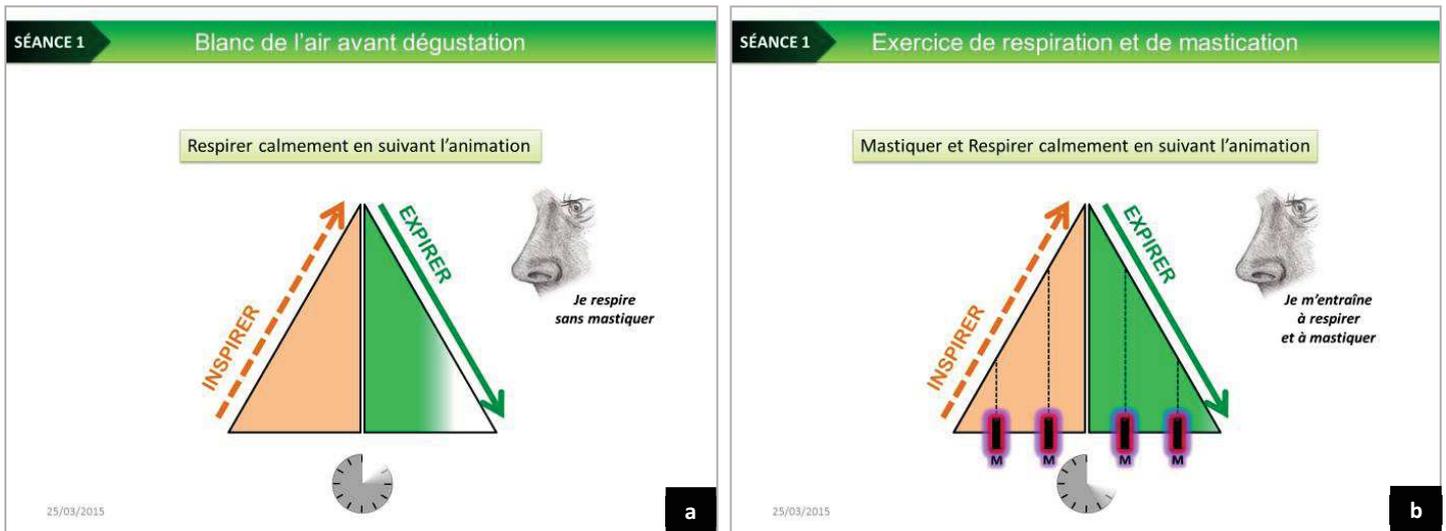


Figure 25. L'animation visuelle de calibration avec (a) l'exercice de respiration et (b) l'exercice de respiration et de mastication.

ii) *L'animation visuelle du blanc de l'air sujet*

L'*animation visuelle du blanc de l'air sujet* est utilisée avant chaque dégustation produit pour extraire les composés d'arôme naturellement émis par le panéliste afin d'établir un blanc de l'air sujet pré-dégustation. Cette animation est présentée ci-dessous (Figure 26).

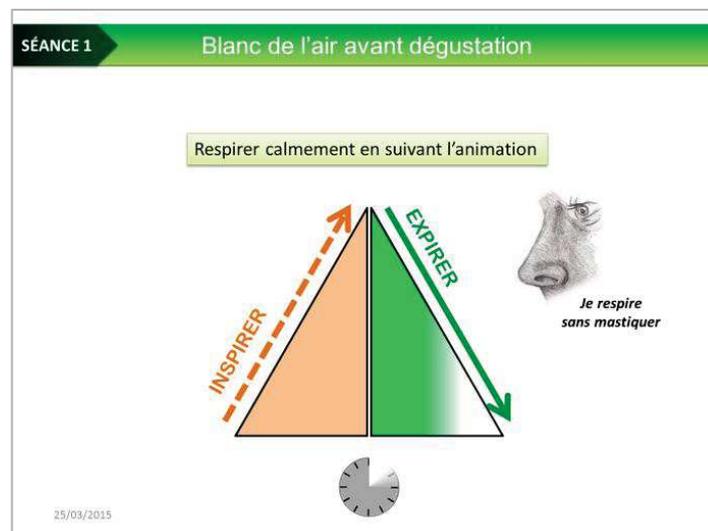


Figure 26. L'animation visuelle du blanc de l'air sujet.

L'animation du blanc d'air est comparable à l'exercice de respiration de calibration présenté précédemment (cf. §3.11.5.b)i), p 93), à savoir, 16 cycles de respiration de 4 sec. incluant 2 sec. d'inspiration et 2 sec. d'expiration. L'exercice est à réaliser la bouche fermée

et sans déglutition. En même temps que le sujet suit cette animation, les composés d'arôme sont extraits sur un seul tube Tenax, soit 1 min. et 4 sec. d'extraction précisément avec un débit d'extraction de 500mL/min.

iii) *L'animation visuelle de dégustation produit*

L'*animation visuelle de dégustation produit* est utilisée pour réaliser toutes les dégustations produits en RATD. Cette animation compte 3 étapes qui sont présentées dans la figure ci-dessous (Figure 27) et décrites ci-après.

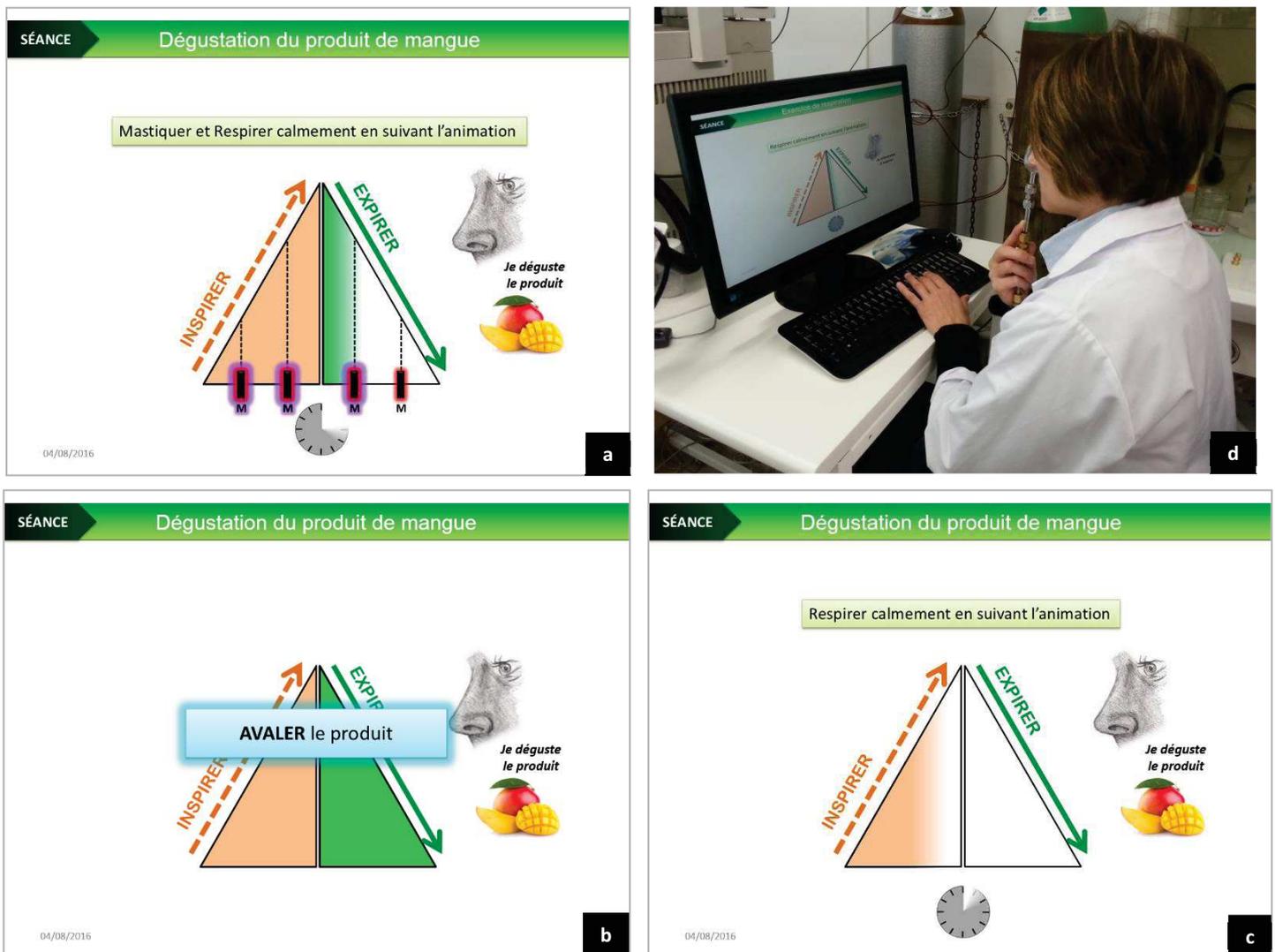


Figure 27. L'animation visuelle de dégustation produit avec, (a) l'étape de mastication du produit, (b) l'étape de déglutition, (c) l'étape post-déglutition et (d) un panéliste en cours de dégustation produit avec le dispositif RATD.

L'étape de mastication du produit (Figure 27 a) est identique à l'exercice de mastication de calibration présenté précédemment (cf. §3.11.5.b)i, p 93), à savoir, 8 cycles de respiration de 4 sec. incluant 2 sec. d'inspiration avec 2 mâchements et 2 sec. d'expiration avec 2 mâchements. Cette étape est à réaliser la bouche fermée et sans déglutition du produit.

Lors de l'étape de déglutition (Figure 27 b) le sujet a 4 sec. pour avaler en une seule fois le produit de mangue en gardant la bouche fermée.

Enfin, l'étape post-déglutition (Figure 27 c) est identique à l'exercice de respiration de calibration présenté précédemment (cf. §3.11.5.b)i, p 93) à savoir, 8 cycles de respiration de 4 sec. incluant 2 sec. d'inspiration et 2 sec. d'expiration. Cette étape est à réaliser la bouche fermée et sans déglutition.

Dans le cas du montage RATD simple, les composés d'arôme sont extraits sur un seul tube Tenax tout au long de l'animation visuelle de dégustation, soit 1 min. et 8 sec. d'extraction précisément avec un débit d'extraction de 500mL/min.

Dans le cas du montage RATD double, les composés d'arôme sont extraits en 2 temps. Lors de l'étape de mastication les composés sont extraits sur un 1^{er} tube Tenax, soit 32 sec. d'extraction avec un débit d'extraction de 500mL/min. Tandis que les composés d'arôme émis lors de l'étape de déglutition et lors de l'étape post-déglutition sont extraits sur un 2^e tube tenax, soit 36 sec. d'extraction avec un débit d'extraction de 500mL/min. Les phases de mastication et de post-déglutition sont ainsi étudiées distinctement avec le montage RATD double.

c) L'entraînement du panel RATD

Les panelistes ont été entraînés sur plusieurs séances (2 séances minimum) afin d'être à l'aise avec le protocole de dégustation et les 3 animations visuelles RATD (*animation visuelle de calibration, du blanc de l'air sujet et de dégustation produit*).

Les entraînements ont été réalisés à des périodes proches des sessions de dégustations produits (dernier entraînement à 1 jour voire 1 semaine maximum avant dégustations produits) de manière à ce que les juges soient performants et efficaces.

Une 1^{ère} séance d'entraînement de 30 min. a consisté à découvrir les 3 animations visuelles RATD et à s'exercer à respirer et à mastiquer suivant les cycles imposés. Ces exercices avec animations visuelles ont été réalisés dans un 1^{er} temps sans produits alimentaires en bouche jusqu'à ce que le dégustateur se sente à l'aise avec les consignes.

Puis, en fin de séance, le juge a réitéré l'exercice plusieurs fois avec de la purée de mangue industrielle (compote pomme et mangue, *Charles & Alice*).

Une 2^{ème} séance d'entraînement de 30 min., sur un autre jour, a été réalisée avec 4 produits industriels proches des produits de mangue de l'étude. Ces derniers sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau 6). Les panelistes ont alors pu alors s'exercer sur différentes textures et appréhender les difficultés qui pourraient se présenter à eux dans leur cycles de respiration et de mastication suivant les sensations perçues en bouche.

Tableau 6. Produits industriels utilisés pour l'entraînement *in vivo* des panelistes sur les animations visuelles RATD.

Produits de mangue de l'étude	Produits de substitution utilisés pour les séances d'entraînements en RATD	
	Produit original	Transformation supplémentaire
Cubes frais	 Morceaux de mangue <i>Rochefontaine</i> , fruits en sirop, boîte de conserve	Les morceaux de mangue ont été redécoupés de manière à être au format des cubes de l'étude (0.8 x 0.8 x 1cm)
Purée fraîche	 Compote pomme et mangue <i>Charles & Alice</i> , purée aromatisée, pot individuel	/
Cubes séchés	 Abricot secs de Malatya, <i>Casino</i> , fruit entier dénoyauté	Les abricots sec ont été découpés de manière à être au format des cubes de l'étude (0.8 x 0.8 x 1cm)
Poudre séchées	 Banne séchée, <i>Seeberger</i> , fruit en rondelle	Les rondelles de banane séchée ont été réduites en poudre (broyeur) pour simuler la texture de la poudre séchée de mangue

Enfin, au besoin, et sur demandes spécifiques des panelistes, d'autres séances d'entraînements facultatives ont été proposées. Les animations visuelles ont également été distribuées aux juges de manière à ce qu'ils puissent s'entraîner individuellement devant leur ordinateur personnel s'ils le souhaitent.

d) Les tubes de polymère Tenax de l'étude

i) *La capacité de piégeage des tubes*

Les tubes Tenax ont été testés sur leur capacité piégeage des composés d'arôme de mangue en amont des extractions *in vivo* RATD. Pour cela, des *tests sur la capacité de piégeage* des tubes ont été réalisés pour apprécier les variabilités inter et intra-tubes, ces derniers sont présentés ci-après (cf. §3.12.1, p 99).

ii) *La répartition et l'ordre d'utilisation des tubes*

Du fait de l'existence d'une variabilité de piégeage inter et intra-tube, même minime, quelques précautions ont été prises quant à l'utilisation des tubes Tenax.

Dans le cas du dispositif RATD simple, à raison de 4 dégustations produits incluant, pour chacune, une extraction des composés d'arôme sur le blanc de l'air sujet et sur la dégustation produit, au final 8 tubes Tenax sont utilisés par session de dégustation.

De même, dans le cas du dispositif RATD double, à raison de 4 dégustations produits incluant, pour chacune, une extraction des composés d'arôme sur le blanc de l'air sujet et sur la phase de mastication et la phase post-dégustation, au final 12 tubes Tenax sont utilisés par session de dégustation.

Les précautions prises pour limiter les biais expérimentaux liés au matériel d'extraction ont été d'utiliser les tubes Tenax toujours dans le même ordre et pour la même fonction. Ainsi, dans le cas du RATD simple, 4 tubes ont été catégorisés comme tubes d'extraction pour le blanc de l'air sujet avec un ordre d'utilisation, et 4 autres tubes ont été catégorisés comme tubes d'extraction pour la dégustation produit avec un ordre d'utilisation. La même démarche a été opérée pour les 12 tubes Tenax utilisés pour le RATD double.

iii) *Le conditionnement et le stockage des tubes d'extraction*

En amont des extractions RATD, les tubes Tenax sont conditionnés à 300 °C pendant 30 min. avec un débit d'hélium de 100mL/min au moyen du termodesorbeur Turbo Matrix 650 (ATD PerkinElmer, CT, USA).

Après extraction des composés d'arôme par RATD, les tubes sont scellés avec des écrous de stockage et sont analysés en GC-MS dans les 12 h.

3.12. Tests d'optimisation et de validation du protocole RATD

Plusieurs tests ont été réalisés en condition *in vivo* et *in vitro* afin d'optimiser et de valider le protocole d'extraction en RATD et le protocole de dégustations produits.

3.12.1. Tests de la capacité de piégeage des tubes Tenax

Les tubes Tenax utilisés pour l'étude sont conditionnés et standardisés suivant les normes du fabricant. Cependant, malgré un format de présentation identique entre tubes Tenax, il est possible d'observer des différences intra et inter-tubes au niveau capacités d'extraction des composés d'arôme. Ainsi, un *test de capacité de piégeage des tubes Tenax* a été réalisé afin d'évaluer les biais expérimentaux possibles apportés par le matériel d'extraction.

a) Tests *in vitro* mis en place en P&T pour tester les tubes Tenax

Afin de tester les tubes Tenax de l'étude sur leur capacité de piégeage, des tests *in vitro* en P&T ont été menés au moyen du montage présenté ci-dessous (Figure 28).

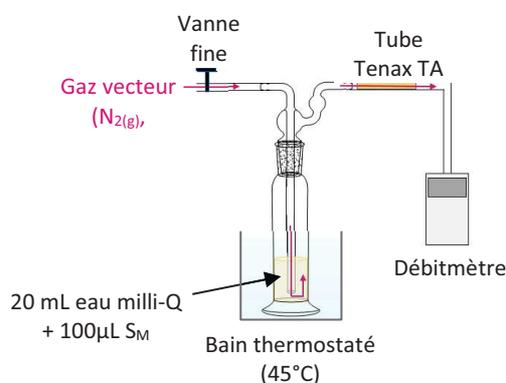


Figure 28. Montage P&T *in vitro* utilisé pour tester la capacité d'extraction des tubes Tenax de l'étude.

Dans un flacon en verre pour extraction P&T sont placés 20 mL d'eau milli-Q et 100 µL d'une solution modèle aromatique S_M contenant 6 composés typiques de l'arôme mangue (composés à 1 µg/mL dans du méthanol ; butanoate d'éthyle, butanoate de 3-méthylbutyle, δ-3-carène, α-terpinolène, β-caryophyllène, α-caryophyllène de chez Sigma Aldrich).

Le flacon est ensuite fermé et une phase d'équilibre du système est opérée pendant 5 min. à 45 °C. Puis, une phase d'extraction des composés d'arôme en P&T par bullage à 45 °C pendant 10 min. est réalisée. Les composés sont alors entraînés par un gaz vecteur

(azote à débit constant de 100mL/min) vers un tube Tenax TA où ils seront piégés. Le débit d'extraction est contrôlé au moyen d'une vanne fine et d'un débitmètre (ADM 2000, Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA).

Les composés d'arôme extraits sont ensuite thermodésorbés et analysés en GC-MS dans les mêmes conditions de programmation que décrites ci-après (cf. §0 et §3.13.3, p 106).

b) Tests *in vitro* intra et inter-tubes

Le protocole *in vitro* P&T décrit précédemment (cf. §3.12.1 a), p 99) a été appliqué à 10 tubes Tenax de l'étude afin d'évaluer la variation d'extraction des composés d'arôme entre tubes (variation inter-tubes).

De même, ce protocole *in vitro* P&T a été appliqué à 3 tubes Tenax de l'étude 4 fois (4 répétitions) afin d'évaluer la variation d'extraction des composés d'arôme pour un tube Tenax donné (variation intra-tubes).

3.12.2. Test des tubes en série

Afin de voir si le débit d'extraction de 500mL/min utilisé pour l'extraction des composés d'arôme en RATD n'est pas trop fort, un *test des tubes en série* a été réalisé. Pour cela, le même montage et le même protocole *in vitro* P&T présentés précédemment (cf. §3.12.1, p 99) ont été repris mais en modifiant quelques paramètres expérimentaux comme montré dans la figure ci-dessous (Figure 29).

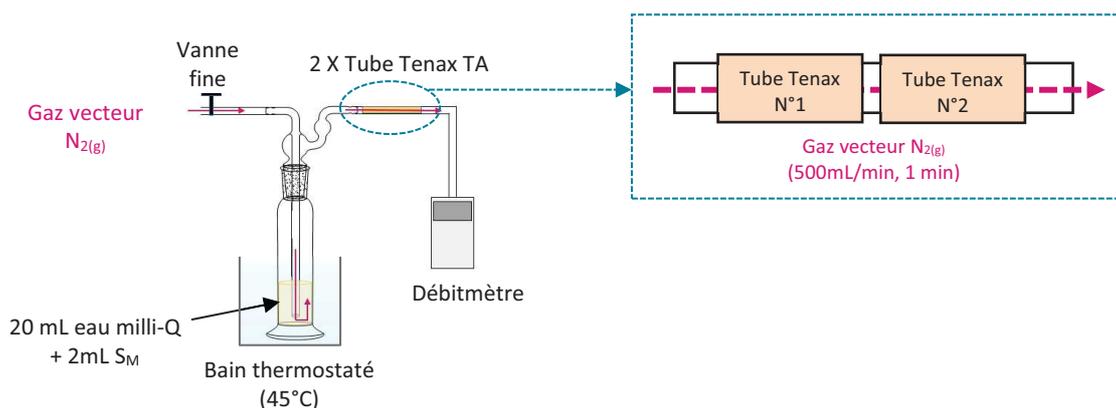


Figure 29. Montage P&T *in vitro* utilisé pour valider le débit d'extraction en RATD.

Deux tubes Tenax ont été montés en série à la fin du montage (2 tubes l'un à la suite de l'autre). Dans le flacon en verre P&T sont placés 20 mL d'eau milli-Q et 2 mL de la solution modèle aromatique S_M contenant les 6 composés typiques de l'arôme mangue à $1\text{ }\mu\text{g/mL}$.

Le système est placé à 45 °C pendant 10 min., puis les composés d'arôme sont extraits pendant 10 min. à 45 °C avec un débit de gaz vecteur à 500mL/min. Le débit d'extraction est contrôlé au moyen d'une vanne fine et d'un débitmètre (ADM 2000, Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA).

Dans ces conditions d'extraction, la quantité de composés d'arôme libérés *in vitro* en P&T est bien plus importante que la quantité de composés d'arôme libérés *in vivo* avec un sujet humain équipé du dispositif RATD.

L'expérience P&T menée ainsi permet d'extraire 10 fois plus de composés d'arôme que lors d'une dégustation *in vivo* sur purée de mangue, 3.6 fois plus que sur cubes de mangue et 2.5 fois plus que sur frites séchées de mangue.

Dans ces conditions de piégeage « drastique », le but de l'expérience est de voir si le 1^{er} tube Tenax n'a pas perdu de composés d'arôme au cours de l'extraction. Auquel cas, le temps d'extraction et le débit d'extraction peuvent être validés pour mener à bien le protocole d'extraction des composés d'arôme en RATD.

Après extraction P&T, les 2 tubes Tenax sont thermodésorbés et les composés d'arôme sont analysés en GC-MS. Les conditions de programmation GC-MS utilisées sont les mêmes que décrites ci-après (cf. §0 et §3.13.3, p 106).

3.12.3. Test des temps de repos entre dégustations

Pour mettre au point le protocole et l'organisation d'une session de dégustations pour les produits de mangue, 2 temps de repos ont été testés entre les dégustations produits. Le temps de repos assure au sujet de retrouver une physiologie orale de repos (état salivaire non stimulé) et une neutralité aromatique en bouche. L'objectif du *test des temps de repos* mis en place dans cette partie est de choisir un temps de repos qui permette aux sujets d'être le plus répétable possible sur les 4 dégustations produit.

Pour ce faire, il a été demandé à 2 panélistes entraînés du panel RATD (2 hommes) de déguster 10 g de purée de mangue industrielle (compote pomme et mangue, *Charles & Alice*).

Les conditions de dégustation et d'extraction des composé d'arôme sont les mêmes que celles établies et décrites précédemment pour les expériences RATD (cf. §3.11, p 87) :

- cycles de respiration/mastication standardisés au moyen de l'animation visuelle RATD.
- blanc de l'air du sujet sur un 1^{er} tube Tenax et extraction des composés d'arôme lors de la dégustation produit sur un 2^{ème} tube Tenax, avec, pour chacun un débit d'aspiration de la pompe de 500mL/min.
- dégustation de la purée sur 68sec. (32 sec. de phase pré-déglutition, 4sec. de déglutition et 32 sec. de phase post-déglutition).
- rinçage de la cavité orale du sujet après chaque dégustation produit (cf. §3.11.2.d)i), p 89).

La purée industrielle a été dégustée 4 fois par les panélistes avec, entre chaque dégustation, soit un temps de repos test de 30 min. ou bien de 1h. Ainsi, avec 2 panélistes et 2 temps de repos à tester, 4 sessions de dégustations ont été réalisées au total.

Les composés d'arôme extraits sur tubes Tenax sont ensuite thermodésorbés et analysés en GC-MS dans les conditions de programmation décrites ci-après (cf. §0 et §3.13.3, p 106).

3.12.4. Test des montages RATD et choix d'un montage pour l'étude *in vivo*

Dans un 1^{er} temps, deux montages RATD ont été proposés pour étudier la libération *in vivo* des COVs au cours de la dégustation des produits de mangue.

Le montage RATD simple permet d'extraire les COVs relargués par le dégustateur au cours de la consommation du produit de mangue sur un seul tube Tenax (Figure 30). Ainsi, une extraction *in vivo* RATD de 68 sec. est opérée sur un seul tube Tenax (32 sec. pré-déglutition + 4 sec. de déglutition + 32 sec. post-déglutition).

Le montage RATD double permet d'extraire les COVs libérés sur 2 tubes Tenax différents, l'un est utilisé pour étudier la libération des COVs en phase pré-déglutition et l'autre est utilisé pour étudier la libération des COVs en phase post-déglutition (Figure 31). Autrement dit, 32 sec. d'extraction *in vivo* RATD sont opérées sur 1^{er} tube Tenax (phase pré-déglutition), puis 36 sec. d'extraction *in vivo* supplémentaires sont opérées sur 2^{ème} tube Tenax (phase de déglutition + post-déglutition). Pour cela, il est demandé au panéliste de se

positionner sur le 2^{ème} port olfactif RATD en début de déglutition (cf. Schéma RATD double Partie 4, §3.9, p 85).

Ce 2^{ème} montage RATD a été mis en place en référence aux travaux de Frank *et al.* (Frank, Eyres, *et al.*, 2012) sur orange et carotte. Les auteurs avaient alors étudié séparément les phases pré- et post-déglutition des sujets en PTR-MS pour observer un potentiel effet texture des produits sur la libération *in vivo* des COVs.

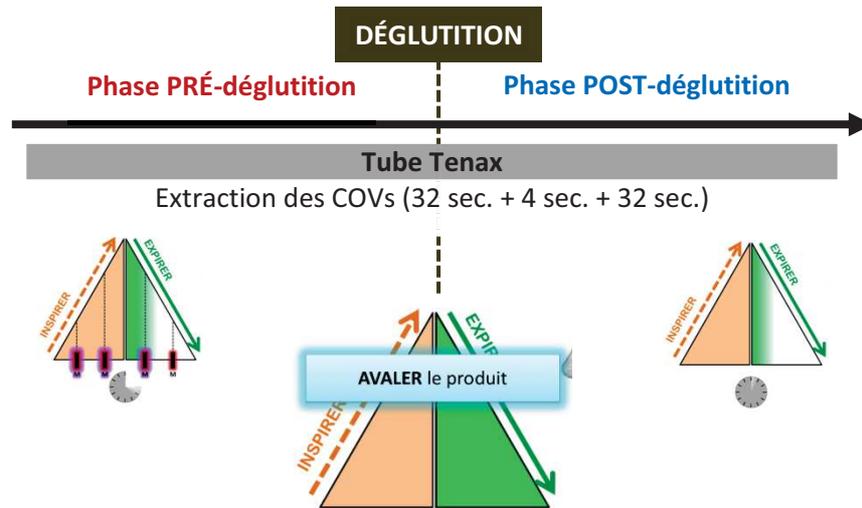


Figure 30 : Déroulement d’une séance de dégustation en RATD simple avec étude de la libération *in vivo* des COVs sur le total des phases (phases pré-déglutition et post-déglutition).

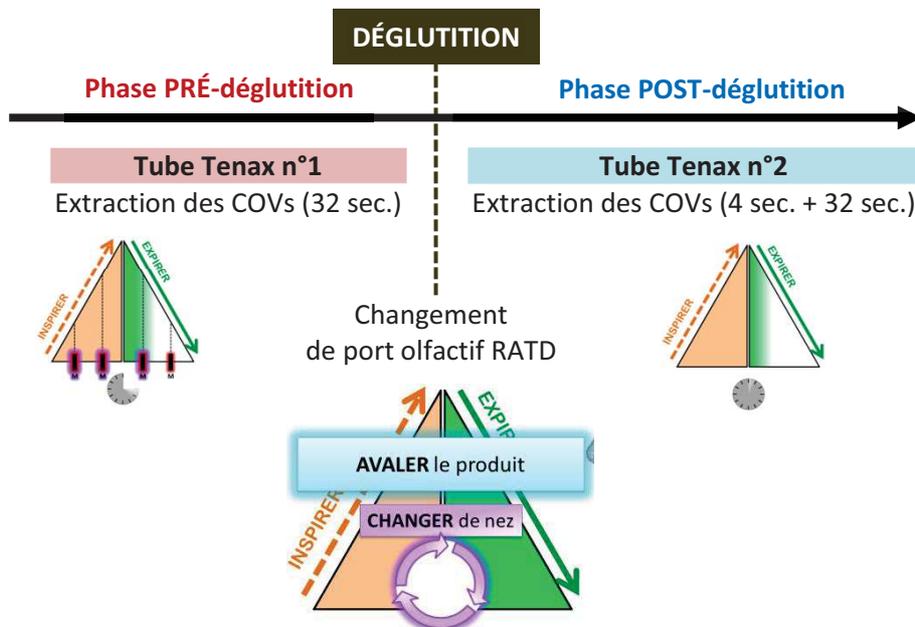


Figure 31 : Déroulement d’une séance de dégustation en RATD double avec étude de la libération *in vivo* des COVs sur les phases pré-déglutition et post-déglutition.

Ainsi, un 1^{er} test *in vivo* a été réalisé sur le RATD double pour voir si la dissociation des phases pré- et post-déglutition avait un intérêt pour étudier l'impact de la matrice des fruits sur la libération des COVs.

Pour ce faire, 2 panélistes (1 femme, 1 homme) entraînés au protocole de dégustation RATD et aux animations visuelles ont dégustés 4 fois 2 produits industriels de mangue comparables d'un point de vue aromatique sur le montage RATD double. Les conditions de dégustation et d'extraction des composé d'arôme sur tubes Tenax sont les même que celles établies et décrites précédemment (cf. §3.11, p 87).

Les produits industriels utilisés pour ce test ont été confectionnés à partir de cubes de mangue en sirop (fruits en sirop, en conserve, *Rochefontaine*). Les cubes ont été égouttés puis redécoupés en cubes réguliers au couteau. La moitié des cubes a été gelée à l'azote puis stockée à -20 °C. L'autre moitié des cubes a été réduite en purée au blender puis gelée à l'azote liquide avant d'être stockée à -20 °C. Les 2 produits sont donc comparables d'un point de vue aromatique mais présentent des textures différentes. Les produits sont mis à décongeler pendant 2h au frigo avant d'être servis pour les dégustations.

Les composés d'arôme extraits sur tubes Tenax sont ensuite thermodésorbés et analysés en GC-MS dans les conditions de programmation décrites ci-après (cf. §0 et §3.13.3, p 106). Avant analyse GC-MS, 2µL d'une solution étalon α -cedrène à 13 ng/µL sont déposés dans le tube Tenax (cf. §3.13.1, p 105) afin de suivre l'évolution du signal en GC-MS.

À l'issue des résultats obtenus pour ce test des phases, seul le montage RATD *in vivo* le plus adéquat et le plus intéressant pour étudier l'impact de la matrice des fruits sur la libération *in vivo* des composés d'arôme des produits de mangue a été utilisé pour la suite des travaux *in vivo*.

3.12.5. Test de dépôt de l'étalon interne

Toutes les analyses GC-MS réalisées avec étude des composés d'arôme extraits sur tube Tenax, ont été menées avec un étalon interne, l' α -cedrène. En amont des analyses, une solution d' α -cedrène est déposée dans les tubes Tenax avec une microseringue.

Un *test de dépôt de l'étalon interne* a été réalisé pour voir si l'utilisation et le protocole d'introduction de cet étalon pour les analyses GC-MS était possible et répétable.

Ainsi, dans 6 tubes Tenax de l'étude, 2 μ L de la solution étalon d' α -cedrène à 13 ng/ μ L dans de l'hexane ont été déposés avec une microseringue de précision de 5 μ L. Les tubes ont ensuite été thermodésorbés et l'étalon α -cedrène analysé en GC-MS dans les conditions de programmation décrites ci-après (cf. Partie 4, §0 et §3.13.3, p 106)

3.13. Analyses des composés d'arôme

3.13.1. Dépôt d'un étalon interne

Avant de réaliser l'analyse GC-MS des composés d'arôme extraits sur tubes Tenax en conditions *in vitro* ou *in vivo*, 2 μ L d'une solution étalon (α -cedrène à 13 ng/ μ L dans de l'hexane) sont déposés à l'intérieur de chaque tube sur le polymère Tenax à l'aide d'une microseringue de précision de 5 μ L.

Le dépôt de la solution d' α -cedrène par microseringue a été testé pour évaluer la répétabilité de ce protocole d'étalonnage. Ce *test de dépôt de l'étalon interne* a été présentés précédemment (cf. §3.12.5, p 105).

L' α -cedrène permet de suivre l'état du système GC-MS sur les mois d'expériences menés en *in vivo* (suivi de la performance et de la résolution du signal GC-MS). Cet étalon permet aussi de semi-quantifier les composés qui n'ont pas pu être achetés en molécules standards afin d'effectuer une quantification (courbe de calibration).

3.13.2. Matériel de thermodésorption et programmation

Dans un 1^{er} temps les composés d'arôme piégés sur tube Tenax lors des expériences *in vitro* ou *in vivo* sont thermodésorbés au moyen d'un thermodésorbiteur automatique Turbo Matrix 650 (ATD PerkinElmer, CT, USA).

Les conditions de thermodésorption utilisées et décrites ci-après ont été optimisées de manière à ce que tous les composés d'arôme soient bien désorbés et injectés en GC-MS.

La thermodésorption compte deux étapes. Dans un 1^{er} temps, les composés d'arôme sont désorbés du tube Tenax TA d'extraction pendant 15 min. à 280 °C avec un débit d'hélium constant de 100 mL/min. Les composés sont alors dirigés et condensés sur un autre piège Tenax TA (tube en verre, 100 mg Tenax TA, 60-80 mesh, réf. M0413535, Perkin Elmer, CT, USA) placé à -30 °C (piège froid sous CO₂). Puis, une seconde désorption des composés est opérée. Le piège froid Tenax est alors chauffé rapidement à 280 °C avec une rampe de 99 °C/s, puis maintenu à 280 °C pendant 10 min. Les composés d'arôme sont alors envoyés en tête de colonne GC au travers d'une ligne de transfert (colonne désactivée) placée à 280 °C, avec un débit d'hélium constant de 1.5mL/min, et en mode d'injection splitless.

3.13.3. Matériel GC-MS et programmation

Après thermodésorption, les composés sont analysés en GC-MS à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Agilent 6890 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) équipé d'une colonne mi-polaire DB-1701 (60 m x 0.25 mm, 0.25 µm d'épaisseur de phase (14% cyanopropyl)-méthylpolysiloxane, Agilent J&W GC column) et couplé à un spectromètre de masse Agilent 5975 (Agilent Technologies, Palo Alto, USA). Le système GC-MS est programmé au moyen du logiciel MSD Chemstation.

La programmation GC-MS utilisée dans cette partie est détaillée ci-après. Les composés thermodésorbés et injectés en splitless sont ensuite séparés le long de la colonne GC avec un débit d'hélium constant à 1.5 ml/min. Le four GC est placé à 45 °C pendant 5 min., puis est ensuite chauffé à 115 °C (rampe de de 2 °C/min), puis à 250 °C (rampe de 10 °C/min) et laissé à 250 °C pendant 10 min. Après une analyse GC de 63.5 min. les composés sont ensuite envoyés vers le SM via une ligne de transfert (280 °C). Les composés sont ionisés en impact électronique (250 °C, 70 eV) et sélectionnés par un analyseur quadripolaire (150 °C) en mode SCAN sur une plage de [35 à 350] m/z.

3.13.4. Courbes de calibration

Les molécules standards citées ci-après ont été utilisées pour établir des courbes d'étalonnage afin de quantifier les composés d'arôme extraits sur Tenax en conditions *in vitro* et *in vivo* : α -pinène, camphène, β -pinène, β -myrcène, δ -3-carene, α -phellandrène, α -terpinène, limonène, p-cymène, β -ocimène, γ -terpinène, terpinolène, butanoate de 3-méthylbutyle, α -gurjunène, β -caryophyllène, α -caryophyllène (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA).

Dix solutions étalons S_{EI} avec des concentrations finales en composés d'arôme de 1, 2, 3, 4, 5, 8, 10, 15, 20, 25 ng/ μ L dans de l'hexane ont été réalisées. Pour le composé δ -3-carene présent en grande quantité dans les produits de mangue, 6 autres solutions étalons S_{EI} de 35, 50, 100, 200, 250, 350 ng/ μ L dans de l'hexane ont été confectionnées. Ces 16 solutions étalon contiennent également de l' α -cedrène (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) à une concentration finale de 13 ng/ μ L.

Pour chaque solution étalon, 2 μ L ont été déposés dans un tube Tenax à l'aide d'une microsiringue de précision de 5 μ L. Les composés ont ensuite été analysés dans les mêmes conditions GC-MS que décrites précédemment (cf. §0 et §3.13.3, p 106). L'expérience a été répétée 3 fois pour chaque solution.

Ces analyses ont permis d'établir des courbes de calibration pour chaque composé d'arôme. Les équations des courbes de calibration et les formules de quantification des composés d'arôme sont données par la suite (cf. §3.14.2, p 108).

3.14. Exploitation des résultats

3.14.1. Identification des composés d'arôme

L'identification des composés est permise par recoupement des données expérimentales et littéraires obtenues sur le SM des composés comparées à la bibliothèque NIST (National Institute of Standards and Technology, version 2.0, Gaithersburg, MD, USA) et à l'IR des composés comparé à des bases de données (Flavornet 2004, The LRI and Odour Database 2006, NIST 2011, Pherobase 2014) ou à des publications sur colonne DB-1701. L'injection de molécules standards a également été réalisée en GC-MS pour certifier de l'identification des composés observés.

3.14.2. Quantification des composés d'arôme

a) Courbes de calibration

Les données GC-MS obtenues pour les solutions étalons S_{EI} ont été traitées avec le logiciel d'analyse MassHunter Quantifier (Agilent Technologies Inc. 2008, version B.06.00SP01). Pour chaque composé d'arôme, des ions spécifiques ont été sélectionnés et utilisés pour tracer des courbes de calibration. Les ions quantifieurs choisis ainsi que les courbes de calibration obtenues pour chaque composé d'arôme sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau 7).

Tableau 7. Courbes de calibration établies pour quantifier les composés d'arôme observés en RATD *in vivo*.

Solutions étalon*	Composés	Ions quantifieurs** (m/z)	Équations des courbes de calibration (y = a x)	Coefficient de régression linéaire R ²
1	α-pinène	91, 93, 121, 136	y = 47.68 x	0.993
1	camphène	91, 93, 121, 136	y = 49.94 x	0.995
1	β-pinène	91, 93, 121, 136	y = 22.07 x	0.998
1	β-myrcène	91, 93, 121, 136	y = 30.43 x	0.997
1	δ-3-carène	91, 93, 121, 136	y = 52.40 x	0.998
1	α-phellandrène	91, 93, 121, 136	y = 56.70 x	0.999
1	α-terpinène	91, 93, 121, 136	y = 71.53 x	0.998
1	limonène	68, 91, 93, 121, 136	y = 46.92 x	0.997
1	p-cymène	91, 119, 134	y = 84.63 x	0.995
1	β-ocimène	91, 93, 121, 136	y = 18.19 x	0.988
1	γ-terpinène	91, 93, 121, 136	y = 52.74 x	0.996
1	terpinolène	91, 93, 121, 136	y = 55.30 x	0.998
1	butanoate de 3-méthylbutyle	43, 55, 70, 71, 89, 115	y = 62.32 x	0.993
1	α-gurjunène	91, 93, 161, 204	y = 26.12 x	0.996
1	β-caryophyllène	93, 121, 161, 133	y = 14.75 x	0.961
1	α-caryophyllène	80, 93, 121, 147	y = 31.39 x	0.994
2	δ-3-carène	91, 93, 121, 136	y = 99.75 x	0.999
1 et 2	α-cedrène [§] (étalon interne)	91, 93, 105, 161, 204	-	-

Légende :

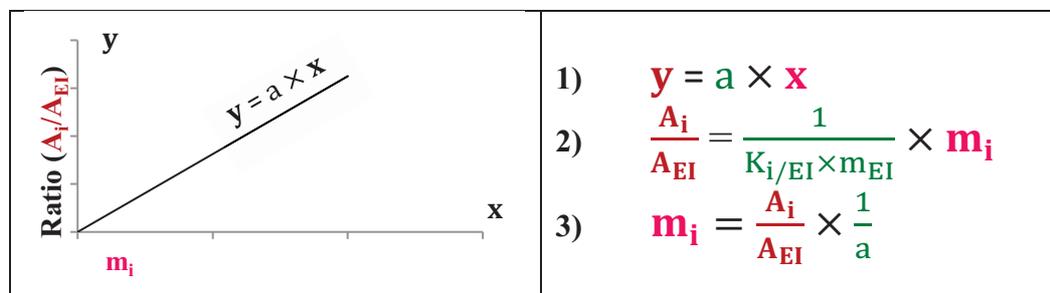
*Solution étalon 1 : composés injectés en GC-MS entre 2 et 50 ng (10 points de calibration) ; Solution étalon 2 : composés injectés en GC-MS entre 70 et 700 ng (6 points de calibration)

**Ions quantifieurs, ions spécifiques et caractéristiques des composés qui sont utilisés pour établir les courbes de calibration. Le logiciel MassHunter somme les signaux des différents ions sélectionnés en GC-MS et établi un nouveau chromatogramme (EIC, extraction current) dont les aires sous les pics seront utilisées pour établir les courbes de calibration.

(§) α-cedrène utilisé comme étalon interne (suivi de la performance et de la sensibilité du système GC-MS) toujours à la même concentration pour toutes les analyses GC-MS de composés d'arôme avec extraction sur Tenax TA (13ng/μL).

Les équations des courbes de calibration ont permis d'établir les équations de quantification des composés d'arôme. Les paramètres de ces équations sont illustrés ci-dessous (Figure 32)

Figure 32. Courbe de calibration et équation de quantification.



Avec :

- $\frac{A_i}{A_{EI}}$: Le ratio des aires sous les pics chromatographiques obtenus en GC (EIC¹) du composé i (A_i) et de l'étalon interne α -cedrène (A_{EI})
- a : le coefficient directeur de la droite de calibration spécifique de chaque composé i (Tableau 7), avec $K_{i/EI}$ le coefficient de réponse du composé i par rapport à l'étalon interne α -cedrène en GC-MS, et m_{EI} la quantité d'étalon interne α -cedrène déposée sur le tube Tenax en amont de l'analyse GC-MS (26 ng)
- m_i : la quantité de composé i déposée le tube Tenax en amont de l'analyse GC-MS (ng)

b) Équations de quantification

Pour les composés dont les courbes de calibration ont été établies, la quantification est réalisée au moyen du logiciel MassHunter Quantifier (traitement des analyses GC-MS avec les ions quantifieurs) et de la formule suivante (9) :

$$(9) \quad m_i = \frac{A_i}{A_{EI}} \times \frac{1}{a}$$

Avec :

- $\frac{A_i}{A_{EI}}$: Le ratio des aires sous les pics chromatographiques obtenus en GC (EIC²) du composé i (A_i) et de l'étalon interne α -cedrène (A_{EI})

¹ EIC (extracted ion current) : somme des signaux émis en GC-SM par les ions quantifieurs choisis avec le logiciel d'analyse MassHunter (ions spécifiques entre 35 et 350 m/z)

² EIC (extracted ion current) : somme des signaux émis en GC-SM par les ions quantifieurs choisis avec le logiciel d'analyse MassHunter (ions spécifiques entre 35 et 350 m/z)

- a : le coefficient directeur de la droite de calibration spécifique de chaque composé i (Tableau 7)
- m_i : la quantité de composé i relarguée dans les effluves nasales du sujet (en ng) lors de la consommation *in vivo* d'un produit de mangue. Cette quantité doit ensuite être reportée en μg de composé libéré en *in vivo* par kg de matière sèche produit consommée ($\mu\text{g}/\text{kg}$ de MS)

Pour les composés qui n'ont pas pu être achetés en molécules standards (non disponibles sur le marché), et dont la courbe de calibration n'a pas pu être tracée, une semi-quantification en équivalent α -cedrène a été réalisée au moyen de la formule suivante **(10)** :

$$(10) \quad C_i = C_e \times \frac{A_i}{A_{EI}} \times K_{i/EI}$$

Avec :

- C_i , la concentration du composé i relarguée dans les effluves nasales du sujet (en μg équivalent d'étalon interne par kg de matière sèche produit consommée, $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ de MS)
- C_e , la concentration d'étalon interne α -cedrène déposée sur le tube Tenax en amont de l'analyse GC-MS (en μg par kg de matière sèche produit consommée, $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ de MS)
- A_i , l'aire sous pic chromatographique (TIC¹) du composé i obtenu en GC
- A_{EI} , l'aire sous pic chromatographique (TIC²) de l'étalon interne α -cedrène obtenue en GC
- $K_{i/EI}$, le coefficient de réponse du composé i par rapport à l'étalon interne α -cedrène en GC-MS. En semi-quantification, $K_{i/EI}$ est égale à 1 pour tous les composés d'arôme

3.14.3. Analyses statistiques

Les résultats de quantification obtenus ont été soumis à différents tests statistiques au moyen du logiciel XLSTAT (version 2015.6.01, Addinsoft, Paris, France). Ainsi, des tests non-paramétriques de Mann-Witney, de Kruskal-Wallis et de comparaison par paire de Conover-Iman (correction de Bonferroni) avec un risque α de 5 % ont été conduits.

¹ TIC (total ion current) : somme du signal émis par tous les ions en SM en mode SCAN entre 35 et 350 m/z

Partie 5 : Étude de la libération des composés d'arôme en condition *in vitro* : impact de la salive humaine

Le point d'étude décrit ci-après vient en complément des expériences menées en RATD/GC-MS. Il s'agit d'étudier l'impact de la salive humaine sur la libération des composés d'arôme en conditions *in vitro*, en simulant, au mieux, les conditions *in vivo* utilisées précédemment en RATD.

Dans un 1^{er} temps une étude simple a été menée pour évaluer la quantité de salive que les panélistes produisent lorsqu'ils consomment les 4 produits de mangue. Une fois les ratios salive/produits connus, les bols alimentaires des produits de mangue ont pu être constitués pour mener les expériences en conditions *in vitro*.

Parallèlement, les salives des différents panélistes RATD ont été récoltées de manière à constituer un pool de salives humaines pour les expériences *in vitro*.

Enfin, la libération des composés d'arôme a été simulée en conditions *in vitro* en utilisant une méthode d'extraction par Purge and Trap (P&T). Pour cela, un protocole P&T proche des conditions *in vivo* a été optimisé et mis en place afin d'évaluer l'effet salive sur la rétention ou le relargage des composés d'arôme.

3.15. Détermination de la quantité de salive à utiliser pour les expériences P&T *in vitro*

3.15.1. Organisation d'une session de récolte des bols alimentaires

Le déroulement d'une session de récolte des bols alimentaires sur produits de mangue est présenté ci-contre (Figure 33).

Les sessions se sont déroulées sur 2 matinées, 1 matinée pour les produits frais et 1 matinée pour les produits séchés, et sur des plages horaires identiques à celles utilisées pour les expériences RATD, soit de 9h30 à 11h30.

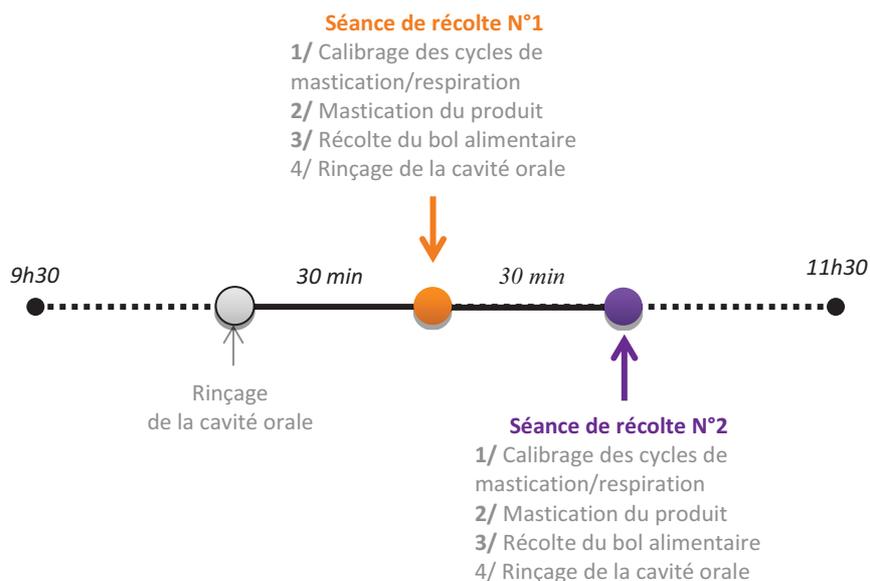


Figure 33. Présentation d'une session de récoltes des bols alimentaires sur produits de mangue.

Une session de récolte compte 1 h d'expérience où les 2 produits frais (ou les 2 produits séchés) sont dégustés 1 fois par intervalle de 30 min. par 5 panélistes RATD (4 hommes, 1 femme). Soit, 5 récoltes de bols alimentaires par produit de mangue ont donc été menées.

3.15.2. Protocole de dégustation produit et de récolte des bols alimentaires

Les sessions de récolte respectent les conditions de dégustations produits établies précédemment pour les expériences RATD (cf. §3.11, p 87).

Tout d'abord, un 1^{er} rinçage de la cavité orale est effectué (cf. §3.11.2.d)i, p 89). Puis, après une période de repos de 30 min. sans boire ni manger, une 1^{ère} séance de dégustation produit et de récolte de bol alimentaire est réalisée.

Dans un 1^{er} temps, les cycles de respiration et de mastication des panélistes sont recalibrés à l'aide de l'animation visuelle de calibration (cf. §3.11.5.b), p 93). Puis, le panéliste vient à mastiquer 10 g de produit frais (ou 3 g de produit séché) pendant 32 sec. en suivant l'animation visuelle de dégustation (cf. §3.11.5.c), p 95). À la fin de l'étape de mastication, il est demandé au panéliste de recracher son bol alimentaire dans un flacon et de le refermer avec un capuchon. Après dégustation, un nouveau rinçage de la cavité orale est effectué.

Une 2^{ème} séance de dégustation produit est ensuite réalisée après une période de repos de 30 min. sans boire ni manger.

Contrairement aux séances RATD, les panélistes n'ont pas eu à arriver à jeun de 2 h avant le 1^{er} rinçage de la cavité orale (aucune étude des composés d'arômes n'est ici effectuée sur les bols alimentaires).

Les produits de mangue frais et séchés fabriqués précédemment pour les expériences RATD (Partie 4, §3.11.2.a), p 88) constituent également les produits de mangue utilisés pour l'étude des bols alimentaire.

L'ordre de présentation des produits frais et des produits séchés s'est fait aléatoirement pour chaque panéliste sur les 2 matinées. En amont des sessions de dégustation, les produits de mangue ont été décongelés au frigo pendant 2h. Les produits sont ensuite servis aux panélistes dans une cuillère à soupe de dégustation et à une température produit de 10-12 °C (sortie du frigo).

3.15.3. Évaluation de la quantité de salive produite

La quantité moyenne de salive produite par les panélistes pour les différents produits de mangue est calculée à partir de la formule suivante **(11)** :

$$(11) \quad \overline{RS}_i = \frac{1}{5} \sum_{j=1}^5 \frac{m(bol)_{i,j} - m(produit)_{i,j}}{m(produit)_{i,j}}$$

Avec :

- \overline{RS}_i , le ratio de salive moyen produit par les 5 panélistes pour le produit de mangue i (g de salive/g de produit ou g de salive/g de MS produit)
- $m(bol)_{i,j}$, la masse du bol alimentaire obtenue pour le produit i et le juge j (en g)
- $m(produit)_{i,j}$, la masse de produit i donnée et consommée par le juge j (en g ou en g de MS)

3.16. Récolte d'un pool de salives humaines

3.16.1. Organisation d'une session de récolte de salives humaines

Le déroulement d'une session de récolte de salives humaines est présenté ci-contre (Figure 34). Une seule session de récoltes salives s'est déroulée au matin, sur des plages horaires identiques à celles utilisées pour les expériences RATD, soit de 8h30 à 12h.

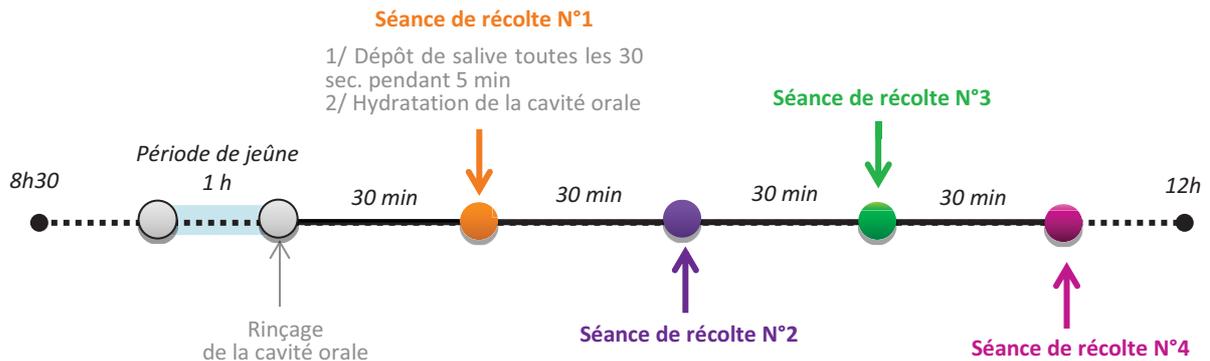


Figure 34. Présentation d'une session de récoltes de salives humaines à l'état de repos.

La session de récolte compte 4 séances de récoltes salives effectuées sur 7 panélistes (dont 2 femmes et 4 hommes du panel RATD et 1 femme supplémentaire) par intervalle de 30 min. Soit, 28 échantillons de salives ont été récoltés pour constituer un pool de salives humaines.

3.16.2. Protocole de récolte des salives humaines

Les salives humaines récoltées sont des salives dites de repos. Ainsi, les sessions de récolte respectent les conditions expérimentales établies en RATD, à savoir qu'il est demandé aux panélistes d'arriver à jeun d'au moins 1h avant la session de récoltes et de respecter une période de repos de 30 min. entre chaque séance de récolte (cf. §3.11, p 87).

Ainsi, tout comme les expériences RATD menées, le panéliste procède à un rinçage de la cavité orale, puis observe une période de repos de 30 min. sans boire ni manger avant la 1^{ère} séance de récolte salive.

Le protocole de récolte de salive décrit ci-après est inspiré des travaux de Drago, Panouillé, *et al.* (2011). Pour réaliser une séance de récolte salive, le panéliste crache sa salive toutes les 30 sec. pendant 5 min., dans un petit contenant en plastique qu'il prend soin de refermer à chaque don (11 dons salive en tout sur 5 min. de récolte). À la fin des 5 min. de

récolte, il est demandé au panéliste de boire 2 petits volumes d'eau *Volvic* de 30 mL pour se réhydrater et s'humidifier la cavité orale. Une nouvelle séance de récolte salive est ensuite opérée 30 min. plus tard dans les mêmes conditions.

Les panélistes ont pu réaliser ces exercices simples directement dans leur bureau à l'aide d'un timer pour bien respecter le protocole.

Pour chaque juge et à chaque séance de récolte terminée, le contenant rempli de salive est gardé au frais (frigo, 5 °C). Les échantillons de salives de tous les juges sont ensuite réunis pour former un pool de salives humaines. Ce mélange de salive est ensuite homogénéisé à l'aide d'un agitateur rotatif (Reax2, Heidolph, Schwabach, Allemagne) pendant 1 h à 5 °C à 30 rpm. Ce dernier est ensuite échantillonné dans des vials (3-4 g/vial de 10 mL) avant d'être placé à - 80 °C en vue des expériences *in vitro*.

3.17. Expériences *in vitro* menées sur la libération des composés d'arôme

Pour étudier l'impact de salive sur la libération des composés d'arôme, un protocole P&T *in vitro*, simulant les conditions *in vivo* utilisées en RATD, a été dans un 1^{er} temps optimisé, puis appliqué aux produits de mangue de l'étude.

3.17.1. Optimisation d'un protocole P&T *in vitro*

Les tests d'optimisation du protocole P&T *in vitro* ont été réalisés avec de la purée de mangue issue d'un lot de mangues Kent en provenance d'Équateur (14 mangues, indice de fermeté $60 < ID < 75$). En amont des expériences *in vitro*, la purée est décongelée au frigo pendant 2 h, puis est utilisée à 10-12 °C (sortie du frigo) pour les expériences.

Le montage P&T *in vitro* utilisée est présenté ci-contre (Figure 35).

Dans un flacon en verre pour extraction P&T sont placés 10 g de purée fraîche de mangue et 2 g d'eau milli-Q. Le ratio 5:1 (w:w) respecte les résultats obtenus sur l'étude des bols alimentaires du panel RATD sur purée de mangue. Ce mélange purée/eau est donc un témoin du bol alimentaire sur purée de mangue fraîche.

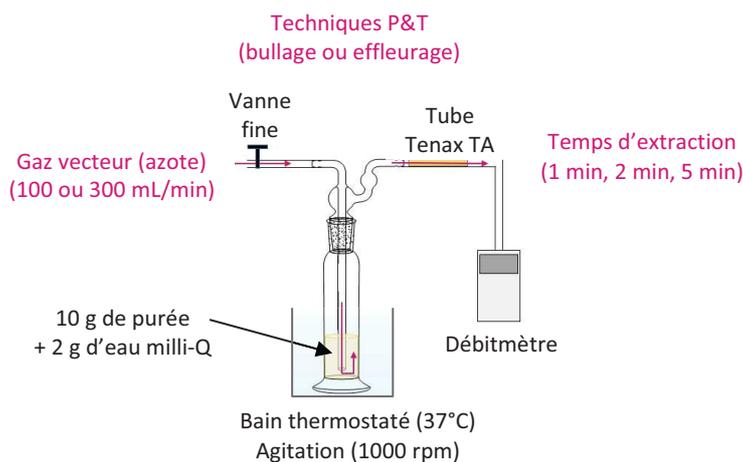


Figure 35. Montage P&T *in vitro* utilisé pour étudier l'impact de la salive sur la libération des composés d'arôme de mangue.

Le flacon P&T est ensuite fermé. Aucune phase d'équilibre du système n'est opérée. La phase d'extraction des composés d'arôme est directement initiée en P&T sous agitation du mélange purée/eau (1000rpm) à 37 ± 1 °C. Deux techniques P&T ont été testées : des extractions des composés d'arôme par entraînement du gaz vecteur (azote) par bullage ou bien par effleurage. Trois temps d'extraction des composés d'arôme à 1 min., 2 min. et 5 min. ont été testés. Deux débits d'extraction du gaz vecteurs à 100 et 300 mL/min ont également été testés. Le débit d'extraction est contrôlé au moyen d'une vanne fine et d'un débitmètre (ADM 2000, Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA).

L'extraction des composés d'arôme sur tube Tenax en P&T *in vitro* pour chaque paramètre testé est réitéré 4 fois (4 répétitions). Au final, 36 expériences P&T *in vitro* ont été conduites (les effleurages avec un débit de 300mL/min pendant 2 et 5 min n'ont pas été réalisés compte tenu des résultats obtenus en amont avec les autres paramètres testés par bullage).

Une fois les composés d'arôme extraits, les tubes Tenax sont scellés avec des écrous de stockage et sont analysés en GC-MS dans les 12 h. Les conditions d'analyses utilisées sont décrites ci-après (cf. §3.18, p 118).

3.17.2. Expériences P&T *in vitro* appliquées sur les produits de mangue

a) Matière première : les produits de mangue de l'étude

Les produits de mangue frais et séchés fabriqués précédemment pour les expériences RATD (Partie 4, §3.11.2.a), p 88) constituent également les produits d'étude de cette partie menée en P&T *in vitro*.

b) Organisation des expériences *in vitro*

Afin d'étudier l'impact de la salive sur la libération des composés d'arôme, il est nécessaire d'établir des extraction P&T *in vitro* sur des échantillons témoins produits (produits de mangue sans salive), des échantillons témoins salive (salive sans produit de mangue) et des échantillons contenant un mélange de produit de mangue et de salive (bol alimentaire reconstitué).

À l'issue de l'étude des bols alimentaires sur produits de mangue, il résulte que les ratios à utiliser pour les produits frais sont de 10 g de produit pour 2.2 g de salive, et pour les produits séchés de 3 g de produit pour 3.8 g de salive.

Ainsi, les échantillons énumérés dans le tableau ci-dessous (Tableau 8) ont été constitués et soumis au protocole P&T *in vitro* décrit ci-après (§3.17.2.c), p 118).

Tableau 8. L'ensemble des expériences P&T menées sur produits de mangue.

Produits	Échantillons préparés pour les expériences P&T <i>in vitro</i>			
	Tests	Produit (g)	Eau milli-Q (g)	Pool de salives (g)
Frais	Purée (Témoin produit purée)	10	2.2	-
	Purée + salive	10	-	2.2
	Cubes (Témoin produit cubes)	10	2.2	-
	Cubes + salive	10	-	2.2
	Salive (Témoin salive)	-	10	2.2
Séchés	Broyat (Témoin produit broyat)	3	3.8	-
	Broyat + salive	3	-	3.8
	Frites (Témoin produit frites)	3	3.8	-
	Frites + salive	3	-	3.8
	Salive (Témoin salive)	-	3	3.8

c) Choix du protocole P&T *in vitro*

À l'issue des tests d'optimisation, un seul protocole P&T *in vitro* a été choisi et appliqué sur les produits de mangue de l'étude.

Les échantillons sont placés dans des flacons en verre pour extraction P&T. La température des produits de mangue est de 10-12 °C lors de leur introduction dans le flacon. De même, l'échantillon de salive est introduit à 37 ± 1 °C.

Une fois le flacon fermé, celui-ci est placé dans un bain à 37 ± 1 °C et sous agitation magnétique (1000 rpm). L'extraction P&T *in vitro* menée est directe (sans phase d'équilibre). Les composés d'arôme sont entraînés par bullage du gaz vecteur (azote) dans l'échantillon, avec un débit de 100mL/min et un temps d'extraction de 2 min.

Les extractions P&T *in vitro* sont répétées 4 fois (4 répétitions) pour chacun des 10 échantillons. Une fois les composés d'arôme extraits, les tubes Tenax sont scellés et les composés sont analysés en GC-MS dans les 12 h suivant les conditions d'analyses décrites ci-après (cf. §3.18, p 118).

3.18. Analyse des composés d'arôme et exploitation des résultats

Avant analyse GC-MS, 2 μ L d'une solution étalon α -cedrène à 13 ng/ μ L sont déposés dans le tube Tenax (cf. §1.15.1, p 49) afin de suivre l'évolution du signal en GC-MS et de quantifier les composés. Les composés d'arôme extraits sont ensuite thermodésorbés et analysés en GC-MS dans les mêmes conditions de programmation que décrites précédemment en RATD (Partie 4. cf. §1.15.2 et §1.15.3, p 49).

L'identification des composés d'arôme a été réalisée par recoupement des données expérimentales et littéraire obtenues à partir des SM, des IR et d'injections de molécules standards de référence comparé à des bases de données (cf. Partie 4, §3.14.1, p 107).

La quantification des composés a été établie suivant les équations de quantification (cf. *formule 9*, p 109) et de semi-quantification (cf. *formule 10*, p110) décrites précédemment en RATD (cf. Partie 4, §3.14.2, p 108).

Les résultats de quantification obtenus ont été soumis à différents tests statistiques au moyen du logiciel XLSTAT (version 2015.6.01, Addinsoft, Paris, France). Ainsi, des tests non-paramétriques de Kruskal-Wallis et de comparaison par paire de Conover-Iman (correction de Bonferroni) et un risque α de 5 % ont été conduits.

Partie 6 : Étude de la perception des composés d'arôme en analyse sensorielle

Pour étudier la perception des composés d'arôme des produits de mangue de l'étude, une analyse sensorielle descriptive a été réalisée au sein du laboratoire d'analyse sensorielle du CIRAD (Montpellier, France).

3.19. Le panel d'analyse sensorielle

Le panel d'analyse sensorielle est composé de 10 personnes internes à l'UMR-Qualisud (CIRAD) : 6 femmes et 4 hommes (dont 3 femmes et 4 hommes du panel RATD). Ces panelistes ont été sélectionnés pour leurs expériences en analyse sensorielle et pour leur disponibilité au moment de l'étude (panelistes régulièrement sollicités pour des projets scientifique en analyse sensorielle au CIRAD).

3.20. Préparation et service des produits de mangue d'entraînement et d'étude

3.20.1. Les produits de mangue d'entraînement

Des produits de mangue ont été confectionnés pour entraîner les panelistes aux descripteurs sensoriels imposés et à l'échelle de notation produits. Ces produits d'entraînement ont été choisis pour leurs propriétés sensorielles proches des produits de mangue de l'étude.

La fabrication des produits d'entraînement utilisée est similaire aux procédures décrites précédemment pour les produits d'étude (cf. Partie 1, §3.2, p 62). La purée de mangue d'entraînement utilisée pour ces tests sensoriels a été préparée à partir d'un lot de mangues Kent en provenance d'Équateur (14 mangues, indice de fermeté $60 < ID < 75$) au moyen d'un blender de laboratoire (Waring Commercial®). Les cubes de mangue d'entraînement ont été réalisés à partir de morceaux de mangue *Rochefontaine* (produit industriel, morceaux de fruits en sirop, boîte de conserve) et redécoupés aux dimensions standards des produits de mangue de l'étude (0.8 x 0.8 x 1 cm). Les produits de mangue séchés d'entraînement ont été confectionnés à partir de mangues séchées *Seeberger* (produit industriel, joues de mangues

séchées en lamelles). Ces mangues séchées ont été redécoupées en morceaux de mangue (0.8 x 0.8 x 1 cm). Une partie a été utilisée comme morceaux de mangue séchés d'entraînement. L'autre partie a été réduite en poudre au broyeur à bille sous azote liquide (Dangoumill 300) pour confectionner la poudre de mangue séchée d'entraînement. Une fois confectionnés, les produits d'entraînement sont traités à l'azote liquide et conservés à -20 °C.

3.20.2. Les produits de mangue de l'étude

Les produits de mangue frais et séchés fabriqués précédemment pour les expériences RATD (Partie 4, §3.11.2.a), p 88) constituent également les produits d'étude de cette partie menée en analyse sensorielle.

3.20.3. Le service des produits de mangue

Le service des produits de mangue d'entraînement et d'étude est opéré comme suit. Les échantillons de mangue sont mis à décongeler la veille des dégustations au réfrigérateur (4-5 °C). Les sessions d'entraînement et d'évaluation des produits d'étude ont été réalisées entre 10 h et 12 h en accord avec les plages horaires utilisées pour les expériences *in vivo* RATD. Les échantillons de mangue ont été servis aux panelistes à une température produit de 10-12 °C (sortie du frigo en accord avec les expériences *in vivo* RATD), dans des petits pots en verre individuels (contenance de 100g), scellés par un couvercle à visser, et numérotés avec un code anonyme à 3 lettres. Les échantillons ont été servis de façon monadique, dans un ordre aléatoire pour chaque paneliste. Les produits séchés de mangue étant persistant en bouche, les échantillons frais ont donc été servis et évalués avant les échantillons séchés. Les dégustations ont été opérées sous lumière rouge, à une température ambiante de 23 °C et une hygrométrie de 35% dans le laboratoire d'analyse sensoriel. Les panelistes ont pu rincer leur cavité orale entre 2 dégustations produits au moyen d'eau minérale *Volvic* et de biscotte nature.

3.21. Sessions d'entraînement et d'évaluation des produits de mangue

Deux sessions d'entraînement ont été réalisées afin de calibrer au mieux le panel sensoriel pour évaluer l'odeur, les saveurs, la texture et l'arôme des produits de mangue de l'étude.

Pour cela, lors d'une 1^{ère} session, les panelistes ont dégusté les produits de mangue d'entraînement et se sont familiarisés aux listes de descripteurs sensoriels imposés et à l'échelle de notation. Les 2 listes de descripteurs (une liste pour les produits frais et une liste pour les produits séchés) ont été établies en référence à la littérature sur mangue (Ledeker, Chambers, *et al.*, 2012; Ledeker, Suwonsichon, *et al.*, 2014; Malundo, Baldwill, *et al.*, 1996; Malundo, Shewfelt, & Ware, 2001; Suwonsichon, Chambers Iv, *et al.*, 2012) et en choisissant les descripteurs les plus pertinents par rapport aux produits de mangue de l'étude. Puis, lors de la 2^{ème} session d'entraînement, les panelistes ont pu s'entraîner à reconnaître et à noter correctement les descripteurs sensoriels sur les produits d'entraînement.

À l'issue des sessions d'entraînement, les 2 listes de descripteurs sensoriels spécifiques aux produits frais et aux produits séchés ont été validées par le panel pour évaluer les produits de mangue de l'étude. Les descripteurs ont été évalués sur une échelle de notation discrète de 0 (non présent) à 10 (intense). Les produits frais et les produits séchés sont donc notés indépendamment les uns des autres (descripteurs et échelles de notation différents). Ces listes sont présentées dans le tableau ci-contre (Tableau 9). L'évaluation des produits de mangue a été réalisée 2 fois pour chaque panéliste, sur 2 jours différents.

3.22. Traitement des résultats et analyses statistiques

Les résultats obtenus en analyse sensorielle ont été soumis à des tests statistiques au moyen du logiciel XLSTAT (version 2015.6.01, Addinsoft, Paris, France). Des analyses de la variance (ANOVA) avec un test de Tukey HSD et un risque α de 5 % ont été réalisées pour discriminer l'odeur, les saveurs, la texture et l'arôme des produits de mangue.

Tableau 9. Listes de descripteurs sensoriels et échelles de notation produits utilisés pour l'analyse sensorielle des produits de mangue.

Descripteurs sensoriels	Définitions		Protocole d'évaluation	Echelle de notation	
	Liste 1 Produits de mangue frais (cubes, purée)	Liste 2 Produits de mangue séchés (cubes, poudre)			
ODEUR	Intensité de l'odeur globale	Intensité de l'odeur globale du produit perçue directement au nez, toutes notes olfactives confondues	Avant mise en bouche du produit, remuer le pot, soulever le couvercle de l'échantillon et sentir le produit	0: Faible 10: Élevé	
	Intensité de l'odeur fruité	Intensité de l'odeur fruitée du produit perçue directement au nez, toutes notes de fruits frais confondues			
	Intensité de l'odeur de cuit	Intensité de l'odeur de caramel ou de fruits cuits, caramélisés, séchés ou confits			
TEXTURE EN BOUCHE	Fermeté	Propriété mécanique liée à la force nécessaire pour mâcher le produit et le déformer	X	Prendre une partie de l'échantillon à l'aide de la cuillère et le mettre en bouche, puis, le comprimer afin d'évaluer la force nécessaire pour écraser le produit entre les dents ou entre la langue et le palais	0: Fondant 5: Tendre 10: Ferme
	Granuleux ou Fibreux	Présence de fibres ou de particules ressenties au cours de la mastication	X	Prendre une partie de l'échantillon à l'aide de la cuillère et le mettre en bouche, puis, le mâcher et le faire tourner en bouche avec la langue afin d'évaluer la présence de fibres ou de particules	0: Lisse 10: Granuleux ou fibreux
	Visqueux	Propriété mécanique liée à une résistance à l'écoulement (capacité du produit à tapisser les muqueuses de la cavité orale)	X	Prendre une partie de l'échantillon à l'aide de la cuillère et le mettre en bouche, puis, faire tourner le produit en bouche avec la langue et l'avaler afin d'évaluer la viscosité	0: Fluide 5: Onctueux 10: Épais ou visqueux

	Collant	X	Propriété mécanique liée à la force nécessaire pour décoller la fraction de produit adhérent à l'intérieur de la cavité buccale ou au niveau des dents	Prendre une partie de l'échantillon à l'aide de la cuillère et le mettre en bouche, puis, le comprimer afin d'apprécier la sensation de collant en bouche (entre les dents ou entre le palais et la langue)	0: Faible 10: Élevé
SAVEUR	Sucré	Saveur fondamentale (saccharose, glucose ...)		Prendre une partie de l'échantillon à l'aide de la cuillère et le mettre en bouche, puis, le faire tourner en bouche et principalement sur la langue. Avaler le produit et noter les saveurs sucré et acide	0: Faible 10: Élevé
	Acide	Saveur fondamentale (acide citrique, tartrique, ...)			
ARÔME	Intensité aromatique globale	Intensité de l'arôme global du produit (toutes notes aromatiques confondues)			
	Mangue	Note fruitée et typique de mangue			
	Fruité	Note de fruits frais (tous fruits confondus or mangue)			Mettre en bouche une cuillère d'échantillon. Bien mastiquer l'échantillon. Pendant la mastication, faire entrer de l'air en bouche afin de détecter les arômes par rétro-olfaction. Avaler et noter le produit
	Épicé	Note épicée (cumin, clou de girofle, poivre noir, réglisse ...)			
	Cuit	X	Note de caramel ou de fruits cuits, caramélisés, séchés ou confits		
Persistance en bouche	Capacité de l'arôme globale du produit (toutes notes aromatiques confondues) à perdurer en bouche après que le produit eut été avalé				

4. Résultats et Discussions

PARTIE 1 : Le profil aromatique des produits de mangue de l'étude

Cette 1^{ère} partie est dédiée à la caractérisation du profil aromatique des produits de mangue frais et séchés de l'étude.

Dans un 1^{er} temps, une technique d'extraction des composés d'arôme de mangue a été mise en place pour étudier au mieux le potentiel aromatique des produits d'étude. Pour cela, la technique SAFE a été choisie et 2 protocoles ont été testés parmi ceux présentés dans la littérature. Seul le protocole le plus satisfaisant a été appliqué pour caractériser l'ensemble des produits de mangue utilisés pour la suite des travaux de thèse.

Dans un 2nd temps, l'étude des profils aromatiques des produits de mangue frais (purée, cubes) et séchés (poudre, cubes) par SAFE/GC-MS sur variété de mangue Kent a été réalisée. Les résultats obtenus ont été valorisés sous la forme d'un article accepté dans une revue à facteur d'impact.

4.1. Choix d'une technique d'extraction des composés d'arôme de mangue

4.1.1. Choix de la technique SAFE

L'extraction des COVs des produits de mangue par la technique SAFE a été choisie au détriment des autres méthodes d'extraction couramment menées sur ce fruit (SE, SDE, SPME, P&T, etc.). En effet, cette technique permet d'obtenir des extraits aromatiques représentatifs de l'arôme originel des matrices d'étude, sans génération d'artéfacts, à l'inverse des méthodes d'extraction classiques. La technique SAFE a notamment déjà été utilisée sur mangue par Munafo *et al.* (Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2014; Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2016) pour décrire le potentiel aromatique de plusieurs cultivars.

4.1.2. Choix et mise en place d'un protocole SAFE

Les travaux précédemment menés en SAFE mentionnent cependant deux techniques existantes : le SAFE en mode direct et le SAFE en mode indirect. Le SAFE direct consiste à réaliser l'extraction SAFE des COVs directement sur la matrice d'étude, tandis que, le SAFE

indirect demande dans un 1^{er} temps d'extraire les COVs à l'aide d'un solvant organique, puis l'extrait aromatique organique obtenu est traité en SAFE. Aucuns travaux ne reportent la méthode SAFE la plus adaptée à une application sur fruits, l'une et l'autre étant tout autant utilisées.

Deux protocoles SAFE direct et indirect, inspirés de la littérature, ont ainsi été testés sur de la purée de mangue fraîche élaborée à l'UMR Qualisud. Les composés d'arôme extraits ont ensuite été analysés en GC-MS. Les résultats SAFE/GC-MS obtenus en mode direct et indirect sont reportés dans le tableau ci-contre (Tableau 1).

D'un point de vue praticité du protocole, le SAFE en mode direct est plus simple à réaliser. Cette méthode demande moins de matériel (verrerie, appareils) et évite les étapes d'extraction liquide-solide au solvant en amont du SAFE souvent longues et fastidieuses à réaliser. Cependant, d'un point de vue temps d'extraction des composés d'arôme, le SAFE en mode direct est plus long à réaliser. En effet, l'extraction sous vide avec un solvant organique est plus rapide (1h15 à 1h30 pour le protocole SAFE indirect mis en place) qu'avec un solvant aqueux (2h à 2h30 pour le protocole SAFE direct mis en place) du fait que le point d'ébullition du solvant est plus faible que celui de l'eau.

D'un point du vue résultats GC-MS, les chromatogrammes obtenus par SAFE direct sont plus lisibles et facilement exploitables. En effet, des composés polluants peuvent être extraits en SAFE indirect, en plus des COVs, du fait des nombreuses étapes expérimentales intermédiaires du protocole.

En ce qui concerne la composition des extraits aromatiques obtenus, le SAFE direct et indirect permettent d'obtenir des résultats qualitatifs similaires. Des différences quantitatives significatives (ANOVA) sont cependant observées pour la moitié des composés extraits.

Tableau 10. Comparaison des techniques SAFE/GC-MS en mode direct et indirect sur purée de mangue fraîche.

Composés	IR DBWAX ^a	Quantité relative (µg/kg MF) ^b				ANOVA ^c
		SAFE direct		SAFE indirect		
		Moy	CV	Moy	CV	
Monoterpènes						
β-pinène	1088	9.3	8.1	27.1	37.1	n.s.
δ-3-carène	1133	7183.1	6.6	7665.0	6.7	n.s.
α-phellandrène	1146	74.2	20.1	91.6	1.5	n.s.
β-myrcène	1151	251.6	8.6	278.6	3.0	n.s.
α-terpinène	1160	45.2	17.3	72.7	10.1	***
Limonène	1181	215.2	6.8	1024.0	6.3	**
β-phellandrène	1189	83.2	10.2	93.0	8.1	n.s.
γ-terpinène	1228	8.6	12.0	11.7	5.0	n.s.
β-ocimène	1239	15.0	16.9	20.2	6.8	n.s.
p-cymène	1251	35.3	23.1	54.3	13.4	**
Monoterpène inconnu	1259	38.7	11.9	47.7	7.1	*
α-terpinolène	1264	386.0	12.9	438.3	4.0	n.s.
Total		8345.4	7.3	9824.2	6.5	*
Sesquiterpènes						
α-copaène	1467	4.9	5.1	9.0	18.1	n.s.
α-gurjunène	1502	12.5	16.5	15.3	15.8	n.s.
β-caryophyllène	1563	205.4	11.9	153.6	18.5	n.s.
α-caryophyllène	1633	114.9	10.7	66.9	18.9	*
Germacrène D	1669	8.2	5.5	9.2	8.5	n.s.
Total		345.9	11.4	254.0	18.0	n.s.
Alcools						
Pentan-3-ol	1102	8.6	16.1	18.0	7.7	**
Pentan-2-ol	1114	32.5	7.7	88.0	10.5	**
(E)-hex-1-ène-3-ol	1361	8.9	10.7	12.0	34.7	n.s.
(Z)-hex-1-ène-3-ol	1373	3.7	21.3	4.3	38.3	n.s.
Total		53.7	10.5	122.4	13.5	***
Aldéhydes						
Hexanal	1075	5.4	5.5	31.2	15.0	**
Heptanal	1176	t	t	18.6	30.4	*
Nonanal & hexèno (isomère)	1381	17.9	5.9	76.3	12.4	*
(E)-non-2-ènal	1514	7.8	3.4	t	t	***
Total		31.1	5.2	126.1	15.7	**
Furanes						
2,5-diméthyl-4-méthoxy- 3(2H)-furanone (Mésifurane, MDMF)	1572	8.3	13.9	6.8	18.6	n.s.
Lactones						
γ-butyrolactone	1586	21.8	10.0	34.0	2.9	**
γ-hexalactone	1657	8.2	10.9	8.7	9.8	n.s.
δ-hexalactone	1747	24.1	31.5	12.7	20.2	n.s.
δ-octalactone	1932	40.9	5.6	15.9	26.3	**
Total		95.0	13.7	71.3	12.0	*
Total des composés extraits		8879.5	7.6	10404.7	7.0	*

Légende :

^aIR, Indices de rétention expérimentaux des composés obtenus sur colonne DB-WAX.

^bQuantité relative des composés d'arôme en μg équivalent de nonan-4-ol par kg de matière fraîche de purée fraîche de mangue (semi-quantification, $\mu\text{g}/\text{kg}$ MF) : (Moy) quantité relative moyenne sur les 3 répétitions (en $\mu\text{g}/\text{kg}$ MF); (CV) coefficient de variation (en %).

^cANOVA, analyse de la variance avec Test de Tukey (HSD, honestly significant difference) avec un risque α de 5% : (n.s.) différence non significative ; (*) différence significative avec $\alpha < 5\%$; (**) différence significative avec $\alpha < 1\%$; (***) différence significative avec $\alpha < 0.1\%$.

Symboles : (\$) composés coélus sur colonne DBWAX, (n.f.) composés non détecté en GC-MS ; (t) composés à l'état de trace ($3 < \mu\text{g}/\text{kg}$ MF)

Ainsi, des différences quantitatives significatives ont été observées en faveur du SAFE indirect pour des terpènes (α -terpinène, limonène, p-cymène et un monoterpène inconnu) ; des alcools (pentan-3-ol et pentan-2-ol) ; des aldéhydes (hexanal, heptanal, nonanal) et la γ -butyrolactone. L'utilisation d'un solvant organique peut permettre d'isoler plus de composés en amont de l'extraction SAFE. À l'inverse, l' α -caryophyllène, le (*E*)-non-2-ène et la δ -octalactone sont plus extraits avec le SAFE direct.

Sur les totaux par classes chimiques, les monoterpènes, les alcools et les aldéhydes sont davantage représentés en SAFE indirect, à l'inverse, les lactones sont davantage présentes en SAFE direct. Sur le total des composés extraits, le SAFE indirect permettrait d'extraire plus de composés (10.4 mg/kg MF) que le SAFE direct (8.9 mg/kg MF).

Enfin, les 2 protocoles ont une répétabilité similaire d'après les coefficients de variation. La difficulté de concentrer les extraits à volumes identiques et le souci de détection des composés en GC-MS peut expliquer les coefficients de variation un peu élevés pour certains COVs.

Les deux techniques SAFE permettent d'obtenir des extraits aromatiques satisfaisants (nature et quantité des COVs extraits) et avec une bonne répétabilité. Cependant, le SAFE direct présente des avantages pratiques d'un point de vue protocole (simple, rapide) et exploitation des résultats (chromatogramme propre, pic facilement intégrable). Ainsi, bien que le SAFE indirect puisse permettre d'extraire plus de COVs en quantité, c'est la technique du SAFE direct qui a été choisie et préférée pour le reste de l'étude.

4.2. Le profil aromatique des produits de mangue frais et séchés de l'étude

4.2.1. Application du protocole SAFE direct aux produits d'étude

Le protocole SAFE direct validé précédemment a été appliqué sur les différents produits de mangue. Pour caractériser le profil aromatique des produits de mangue frais (purée, cubes) et séché (poudre, cubes), les extractions SAFE direct ont été réalisées respectivement sur la purée de mangue fraîche et sur la poudre de mangue séchée.

4.2.2. Impact du séchage sur le profil aromatique de la mangue fraîche

Les composés d'arôme de mangue séchée et l'impact du séchage sur le profil aromatique de la mangue fraîche n'ayant jamais été rapporté dans la littérature, les résultats obtenus ont été valorisés sous la forme d'un article.

a) Contexte de l'étude

Pour étudier l'impact du séchage sur les composés d'arôme de mangue fraîche, de la purée fraîche de mangue et de la poudre séchée de mangue ont été confectionnées à partir d'un lot de mangues homogène de variété Kent (32 mangues, en provenance du Pérou, importation par bateau). La sélection des fruits s'est faite suivant l'aspect général des fruits et suivant leur indice de fermeté (Indice Durofel). Les propriétés physicochimique des produits ont été relevées ($^{\circ}\text{Bx}$, pH, AT, aw, MS). La technique du SAFE direct a été appliquée et les composés d'arôme ont été analysés en GC-MS. Les composés ont été quantifiés grâce à l'utilisation d'un étalon interne, le nonan-4-ol. Des tests statistiques (ANOVA avec test de Tukey et un risque α de 5 %) ont été opérés pour pouvoir comparer les profils aromatiques de la mangue fraîche et séchée pour chaque composé d'arôme, les différences significatives montrant l'impact du séchage. L'OAV des composés a été calculée en considérant la quantité des composés d'arôme et les seuils de détections odorants de ces composés dans l'eau mentionnés dans la littérature. À noter que les composés dont l'OAV est supérieure à 1 peuvent être considérés comme impactant pour l'arôme du produit.

b) Résultats obtenus sur l'impact du séchage sur l'arôme de mangue fraîche

Les résultats SAFE/GC-MS obtenus sur l'impact du séchage sur le profil aromatique de la mangue fraîche sont présentés dans l'article ci-contre "*Aroma compounds in fresh and dried mango fruit (Mangifera indica L. cv. Kent): impact of drying on volatile composition*". Cet article a été soumis et accepté dans l'International Journal of Food Science and Technology (2016).

Original article

Aroma compounds in fresh and dried mango fruit (*Mangifera indica* L. cv. Kent): impact of drying on volatile composition

Adeline Bonneau,^{1,2} Renaud Boulanger,² Marc Lebrun,² Isabelle Maraval² & Ziya Gunata^{1*}

1 UMR Qualisud, University of Montpellier, 34095, Montpellier Cedex 5, France

2 UMR Qualisud, CTRAD, 34398, Montpellier Cedex 5, France

(Received 31 August 2015; Accepted in revised form 25 November 2015)

Summary Volatile compounds from fresh and dried mango were extracted by the solvent-assisted flavour evaporation (SAFE) technique and analysed by GC-MS. Forty-one and fifty five volatile compounds were identified in fresh and dried mango, respectively. Monoterpenes, followed by sesquiterpenes, lactones and alcohols were the major compounds. Drying induced substantial losses of several compounds. The total amount of volatiles decreased by about 59%. These losses could be mainly attributed to the evaporation of the volatiles during drying, the extent of which seemed to increase with the hydrophobicity and Henry's law constant of the compounds. However, new compounds appeared and enrichment of some compounds was observed after drying. Limonene, β -myrcene, δ -3-carene, β -caryophyllene, γ -butyrolactone and 3-methylbutyl butanoate were found to be flavour contributors in both products on the basis of the odour activity values (OAVs). Mesifuran displayed high OAV only in fresh fruit while hexanal and heptanal only in dried mango.

Keywords Dried fruit, fresh fruit, mango, odour activity value, solvent-assisted flavour evaporation.

Introduction

Mango (*Mangifera indica* L.) is a climacteric drupe fruit with a fleshy and juicy mesocarp representing the edible part. Its annual production reaches 30 MT, being the most tropical fruit produced after banana. Its distinct and attractive flavour is highly appreciated by consumers. This fruit has nutritional benefits due to its high fibre, vitamin C and β -carotene content (Tharanathan *et al.*, 2006; Hassan *et al.*, 2013).

Mangoes are mainly consumed fresh. The fresh fruit has a short shelf-life, being quickly perishable, thus causing texture, flavour and taste deterioration. To extend the storage life and meet consumer demand, mangoes are processed into juice, puree, jam and dried fruit. Consumers' food preferences are closely linked with the sensorial characteristics of the products. Flavour is considered to be a key feature affecting consumers' preference. The volatile composition of fresh mango fruit from numerous cultivars has been widely investigated. Several hundred volatile compounds occurring in free form (Pino *et al.*, 2005; Pandit *et al.*, 2009a; Munafa *et al.*, 2014) and more than sixty compounds as glycosidically bound conjugates have been

detected (Lalel *et al.*, 2003c). Monoterpenes, sesquiterpenes, aldehydes, esters, ketones, lactones, alcohols, fatty acids, aliphatic hydrocarbons and shikimate derivatives were identified (Pino *et al.*, 2005; Pandit *et al.*, 2009a; Munafa *et al.*, 2014). Mono- and sesquiterpenes were found to constitute 70–90% of all volatile compounds (Pino *et al.*, 2005; Pandit *et al.*, 2009a). Odour-active compounds in fresh fruits from several mango cultivars have been identified by calculating the flavour dilution factor (FD) of the volatile compounds through gas chromatography-olfactometry (GC-O) analysis (Pino, 2012; Munafa *et al.*, 2014). Monoterpenes like limonene, δ -3-carene, β -myrcene, (*Z*) and (*E*)- β -ocimene; sesquiterpenes like β -caryophyllene; esters like ethyl butanoate, ethyl-2-methylbutanoate and ethyl-3-methylbutanoate; aliphatic aldehydes like (*E,Z*)-2,6-nonadienal, (*E*)-2-nonanal and (*E*)-3-hexenal; furane and furanone derivatives like 2,5-dimethyl-4-methoxy-3(2H)-furanone (mesifuran) and 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone (HDMF); lactones like γ -octalactone; and norisoprenoid ketones like β -ionone and β -damascenone were detected with the highest FD factors. They were therefore considered as being amongst the most odour-active compounds. Volatile compounds exhibiting high FD factors from mango fruit were generally found to have high odour activity

*Correspondent: E-mail: zgunata@univ-montp2.fr

2 Impact of drying on volatile composition A. Bonnaeu et al.

values (OAVs) (Pino, 2012). OAV is the ratio of the volatile concentration in the matrix to its odour threshold determined in the matrix or in a medium close to the matrix. Hence, it gives some clues on the possible impact odorants in the matrix. Interestingly, volatile compounds with high OAVs were often found to be important in the flavour of the product (Grosch, 2001).

In this study, the effect of drying on the volatile composition of mango fruit (cv. Kent) was studied. The effect of mango drying on fruit physicochemical characteristics and texture has been studied (Caparino *et al.*, 2012). However, no reports were found to be available on changes regarding the volatile composition. Drying of nectarines (Sunthonvit *et al.*, 2007), lulo fruit (Forero *et al.*, 2015) and plums (Sabarez *et al.*, 2000) caused significant changes in the volatile composition compared to the fresh fruit. The Kent cultivar was chosen for this study as it is one of the main cultivars cropped worldwide. The fruit was dried in a pilot unit in conditions similar to those implemented in the industry. The solvent assisted flavour evaporation (SAFE) technique was chosen to extract volatile compounds from fresh and dried fruits. So far, only one published study has used this technique to characterise aroma-active compounds from several mango cultivars (Munafa *et al.*, 2014). Other extraction techniques, such as liquid-liquid extraction (LLE), solid-liquid extraction (SLE) (Pandit *et al.*, 2009a), simultaneous distillation-extraction (SDE) (Pino *et al.*, 2005) and solid-phase micro-extraction (SPME) (Lalel *et al.*, 2003a,b), have been used for the recovery of volatile compounds from mangoes. The SAFE technique is operated under high vacuum at a low extraction temperature, leading to the preparation of aroma extracts that represent the flavour of the original product (Munafa *et al.*, 2014). In the current study, volatile compounds isolated by SAFE from fresh and dried mango were analysed by GC-MS. Observed changes in volatile composition as well as the contribution of volatile compounds to the flavour of both products through their OAVs are discussed.

Materials and methods

Chemical reagents

Chemical solvents, pentane, dichloromethane and methanol were from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). 4-nonanol (internal standard) was from Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany). 2-methyl-1-propanol, 1-butanol, β -pinene, α -phellandrene, heptanal, β -phellandrene, γ -terpinene, α -terpinolene, α -caryophyllene, 3-hydroxy-2-butanone, 4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone, nonanal, benzaldehyde and PEA were from Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany); hexanal, limonene, 2-methyl-1-butanol, 5-methylfurfural, 1-octanol,

β -caryophyllene and β -ionone from Fluka Analytical (Steinheim, Germany); 2-pentanol, 3-methyl-1-butanol, butyl butyrate, isoamyl butyrate, (*Z*)-3-hexen-1-ol, furfural, γ -butyrolactone and γ -hexalactone from Interchim (Montluçon, France); δ -3-carene, β -myrcene and δ -octalactone from Fabster (Angerville, France); *o*-xylene from Alfa Aesar; (*E*)-3-hexen-1-ol from Sarsynthex (Merignac, France); and 1-hexanol from SBI Sanofi (Grasse, France). Series of *n*-alkanes, C₈ to C₂₀, were from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

Fresh and dried mango samples

Twenty-two mango fruits (cv. Kent, Peruvian origin) were purchased at a local market in Montpellier, France. Fruits were selected at mature and ripe stage on the basis of their similar aspects, that is size, shape, weight, skin (no dehydration, no damage or fungal infections), texture or firmness (determined by touch by an experienced CIRAD researcher). Fruits were placed in a climatic chamber (KBF 720 E2.1; Binder GmbH, Tuttlingen, Germany) at 25 °C and 90% relative humidity for 2 days to obtain fully ripe fruits. The degree of mango ripening was estimated on the basis of the firmness using a durometer (Durofel; Setop Giraud Technologie, Cavaillon, France) equipped with a 0.10 cm² probe. Two measurements were performed on each mango cheek.

Ripened fruits were manually washed with chlorine solution (NaClO, 100 ppm) at ambient temperature for 10 min and then rinsed abundantly with water. Materials (peeler, knife, mandolin, bowls, cutter table, jars) were washed with chlorine solution (NaClO, 100 ppm) followed by rinsing with water. Fruits were peeled, and cheeks were obtained by slicing the fruit lengthwise with a mandolin. Rectangular fruit slices from each mango were obtained (around 0.8 width \times 0.8 height \times 8 length in cm), gathered and divided into two equal batches. One batch was used to analyse the volatile profile of fresh mango fruit, while the other batch was subjected to a drying process prior to volatile analysis. Fresh fruit was processed into puree in a laboratory blender. The resulting puree was rapidly divided in fractions of around 80 g, immediately frozen under liquid nitrogen and kept at -80 °C until analysis. The other sliced mango batch was processed at the CIRAD experimental unit in Montpellier to obtain dried mango. Drying was performed with a pilot unit (UTA dryer, Villeneuve-sur-Lot, France) at 60 °C, 40% relative humidity and constant air flow. Drying was stopped after 7 h when the fresh fruit had lost around 80% of its initial weight, corresponding to less than 0.6 water activity (a_w), that is the industry standard safety value for dried fruit storage. Dried rectangular mango slices were cut into small sections (around 0.8 width \times 0.8

height \times 1 length in cm) and ground to a powder under liquid nitrogen with a ball crusher (Dangoumill 300; Prolabo, Fontenay-sous-Bois, France). The powder was rapidly separated in fractions of around 80 g and stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analysis.

Physico-chemical characterisation of mango samples

Fresh and dried mangos were characterised for their total soluble solids, pH, titratable acidity, water activity and dry matter.

Total soluble solids were determined with a hand-held refractometer (ATAGO® PAL-3; Atago Instruments, Tokyo, Japan). pH was measured with pH titrator (Titroline 96; Schott-Geräte GmbH, Mainz, Germany). Titratable acidity (TA) was evaluated using a pH titrator (Titroline 96, Schott-Geräte GmbH) and 0.1 M NaOH solution (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). TA was expressed in % mEq citric acid, which is the major organic acid in mango fruit (Tharanathan *et al.*, 2006). Water activity (a_w) was measured with an a_w -meter (AquaLab 4TE; Decagon Devices, Pullman, WA, USA) at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Dry matter (DM) was determined by the AOAC procedure (method 934.06/37.1.10) (AOAC, 2000) with a vacuum oven operated at $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 48 h (Heraeus RVT 360; Heraeus GmbH, Hanau, Germany). DM was expressed in %.

All measurements with puree and powdered dried mango were performed in three replicates. Prior to °Bx, pH and TA analysis, distilled water was added to the dried mango powder.

Extraction of aroma compounds

Volatile compounds were extracted using the solvent-assisted flavour evaporation (SAFE) technique (Munafó *et al.*, 2014). Sixty grams of mango product (fresh puree or dried mango powder) were placed in a 500 mL flask containing 100 mL of ultrapure water and 1 mL of internal standard solution (4-nonanol at $30.0\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ in water:methanol 99:1, v/v). A magnetic stir bar and PTFE boiling stones were placed in the flask to regulate the agitation and distillation. The water bath temperature was held at $45\text{ }^{\circ}\text{C}$. The volatile fraction was isolated by high vacuum (10^{-3} mbar) and collected in a flask cooled with liquid nitrogen. Distillation lasted for 90 min, when high vacuum had been reached. The distillate was recovered, thawed at room temperature and extracted three times with a pentane-dichloromethane mixture (2:1, v/v) at ambient temperature. The solvent volume was 100 mL for the first extraction and then 50 mL. Organic extracts were combined and dried over anhydrous sodium sulphate. They were first concentrated to approximately $400\text{ }\mu\text{L}$ at $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ using a Kuderna Danish column, followed by concentration to around $200\text{ }\mu\text{L}$ under a gentle

nitrogen stream. Each mango product was extracted in triplicate.

Analysis of aroma compounds

An Agilent 6890 series GC (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) equipped with a DB-WAX polar column ($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm}$, $0.25\text{ }\mu\text{m}$ phase film thickness, Agilent J&W GC column) coupled to an Agilent 5973 mass spectrometer detector (Agilent Technologies) was used. Hydrogen was used as carrier gas at 1.5 mL min^{-1} at constant flow. One microlitre of aroma extract was injected (on-column injection at $45\text{ }^{\circ}\text{C}$). Five minutes after injection, the oven temperature increased by $2\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ to $115\text{ }^{\circ}\text{C}$ and then $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ to $250\text{ }^{\circ}\text{C}$. The oven was held at the final temperature for 10 min. The mass spectrometer was operated in electron impact (EI) ionisation mode at 70 eV and at a scan range of 35 to 350 m/z .

Volatile compounds were identified through their mass spectra (NIST version 2.0; National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA), their retention indices (RIs) and the injection of standards, when available. The RI of the compounds was determined by linear interpolation following the injection of n-alkanes ($\text{C}_8\text{-C}_{20}$). Volatile compounds were semi-quantified as equivalent to 4-nonanol (internal standard).

Statistical analysis

ANOVA was performed with an honestly significant difference (HSD) in a Tukey test at a 95% significance level using XLSTAT software (version 2014.1.01; Addinsoft, Paris, France).

Results and discussion

Preparation and characterisation of fresh and dried mango samples

The flavour composition of climacteric fruits like mango is greatly influenced by the degree of ripeness (Pandit *et al.*, 2009b). Moreover, it is very usual to find mangoes of different degrees of ripeness in the same batch. To obtain homogenous batches of mangoes in terms of ripeness, mango fruit samples were matured in a climatic chamber at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ and 90% relative humidity for 2 days. The degree of mango ripening was estimated by a nondestructive method using a Durofel penetrometer. The latter has already been used on several fruits, including mangos, to assess the degree of ripeness (Valente *et al.*, 2013).

Two cheeks from each mango were subjected to Durofel analysis. More than 90% of the fruits presented Durofel indices (DI) between 60 and 80 before

4 Impact of drying on volatile composition A. Bonneau et al.

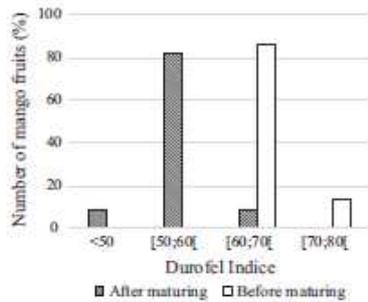


Figure 1 Distribution of mango fruits according to the Durofel indice before and after maturing in a climatic chamber.

maturing (Fig. 1). Note that DI is an arbitrary value ranging from 0 to 100. Maturing conditions were successful for decreasing the firmness as DI was between 50 and 60 for 80% of the fruits. Consequently, maturation in climatic chamber enabled us to obtain a quite homogenous fruit batch regarding ripeness. Fruits were divided into two batches, one for the fresh fruit samples and the other for dried fruit preparation.

The data on total soluble solids (^aBx), pH, titratable acidity (TA), water activity (a_w) and dry matter (DM) of fresh and dried mango fruit were in agreement with those reported in earlier studies (Pott *et al.*, 2005; Tharanathan *et al.*, 2006) (Table 1). Dried mango fruit presented a water activity (0.5132) in agreement with the values (≤0.6) for microbiological safety of dried fruits (Pott *et al.*, 2005).

Changes in volatile constituents from fresh to dried mango

Fresh fruits were processed into puree to obtain homogenous samples prior to the recovery of volatile compounds by the SAFE technique. To better extract volatile compounds from dried mango, the samples were powdered prior to SAFE. Volatile levels were

Table 1 Main analysis of fresh and dried mangoes

Mango products	^a Bx ^a	pH ^b	TA ^c	a _w ^d	DM ^e
Fresh fruit	17.2	3.9	0.7	0.9764	18.2
Dried fruit	82.9	4.6	1.1	0.5132	87.5

^aTotal soluble solids (^aBx) ± 0.1^aBx.

^bpH ± 0.1

^cTitratable acidity (TA) was expressed in % mEq citric acid.

^dWater activity (a_w) was expressed unitless ±0.0001 at 25 °C.

^eDry matter (DM) was expressed in %.

expressed in dry matter (DM) to highlight changes following fruit drying.

Fresh fruit volatile composition of cv. Kent mangoes was dominated by monoterpene hydrocarbons (90.2%), and sesquiterpene hydrocarbons accounted only for about 3.0% (Fig. 2). This is in agreement with a previous study where cv. Kent was classified amongst monoterpene-dominant cultivar groups, in contrast to sesquiterpene-dominant groups (Pandit *et al.*, 2009a). A total of thirty nine volatile compounds were identified, including 27 that were positively identified (Table 2). These included eleven monoterpene hydrocarbons, four sesquiterpene hydrocarbons, nine alcohols, three ketones, one aldehyde, one furan, five lactones and three nonterpene hydrocarbons (Flavornet, 2004; Pino *et al.*, 2005; Pino & Mesa, 2006; Pandit *et al.*, 2009a; NIST, 2011; Pherobase, 2014; The LRI and Odour Database).

The total amount of volatiles was 27.4 mg kg⁻¹ DM. δ-3-carene was the most abundant monoterpene (79.8%). This compound was also reported to be the major aroma compound in cv. Kent (Pino & Mesa, 2006), and in other cultivars like Haden, Tommy Atkins and Keitt (Andrade *et al.*, 2000; Pino & Mesa, 2006). β-caryophyllene was predominant sesquiterpene compound. Lactones, mainly γ-butyrolactone (2.6%), and alcohols, mainly 1-butanol (0.6%), were amongst other quantitatively important constituents. Most of the compounds detected have already been reported in fresh cv. Kent mangoes. Thirteen compounds were not previously detected in cv. Kent, but they have been found in other mango cultivars. They included β-phellandrene, m- and o-xylene, 2-methyl-1-propanol, 3-pentanol, 1-pentanol, (E)-3-hexen-1-ol, 3-hydroxy-2-butanone, mesifuran, 5-methylfurfural, α-methyl-γ-butyrolactone, γ-hexalactone, δ-haxalactone and δ-octalactone.

Three compounds, that is 2-pentanol, 2-decanol and 4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone, were observed for the first time in the volatile composition of mango. These compounds have already been detected in other fruits. 2-pentanol and 2-decanol were found in Brazilian plum (De Sousa Galvão *et al.*, 2011), and

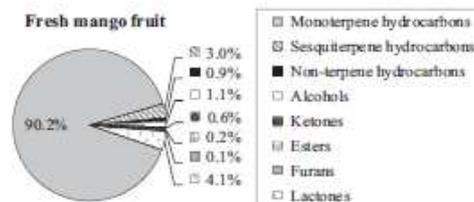


Figure 2 Distribution (%) of chemical class of volatile compounds in fresh mango.

Table 2 Aroma compounds in fresh and dried mango fruit

Compound	CAS no.	LogP ^a	HLC ^b	Rf ^c DBWAX			Relative quantities (µg kg ⁻¹ DM) ^a		Significance ^d
				Lit	Exp	ID ^d	Fresh fruit	Dried fruit	
Monoterpene hydrocarbons									
β-pinene*	127-91-3	4.350	6.37E-02	1113	1105	(A)	20.3	16.8	n.s.
5-3-carene*	13466-78-9	4.610	8.18E-02	1148	1143	(A)	21824.5	7511.0	**
α-phellandrene*	99-83-2	4.620	1.20E-01	1166	1155	(A)	223.3	43.6	***
β-myrcene*	123-35-3	4.880	8.22E-02	1150	1159	(A)	430.5	234.2	**
α-terpinene*	99-86-5	4.750	5.03E-02	1178	1189	(B)	113.9	17.8	**
Limonene*	138-86-3	4.830	5.67E-02	1188	1189	(A)	580.2	174.8	**
β-phellandrene ^o	555-10-2	4.700	1.43E-01	1209	1197	(A)	229.4	61.4	**
γ-terpinene*	99-85-4	4.750	5.70E-02	1238	1235	(A)	23.9	8.8	***
(E)-β-cimene*	3779-61-1	4.800	2.39E-01	1242	1246	(B)	23.9	17.6	n.s.
Unknown monoterpene ^l	-	-	-	-	1265	(C)	132.0	19.6	**
α-terpinolene*	586-62-9	4.880	4.67E-02	1275	1270	(A)	1067.0	201.4	**
Total							24868.9	8306.8	
Sesquiterpene hydrocarbons									
α-copaene*	3856-25-5	5.360	4.05E-02	1488	1468	(B)	35.1	15.9	*
α-gurjunene*	489-40-7	6.180	8.80E-02	1529	1504	(B)	62.6	15.7	***
β-caryophyllene*	87-44-5	6.300	1.67E-01	1570	1565	(A)	525.1	210.9	**
α-caryophyllene*	6753-98-6	6.950	2.95E-01	1640	1634	(A)	199.2	85.3	**
Total							822.0	327.8	
Norisoprenoid									
β-ionone*	14801-07-6	4.420	4.06E-04	1912	1906	(A)	n.d.	t	n.s.
Nonterpene hydrocarbons									
Toluene*	108-88-3	2.540	5.01E-03	1042	1034	(A)	165.5	73.8	*
m-xylene ^o	108-38-3	3.090	4.46E-3	1138	1131	(B)	46.2	9.1	**
o-xylene ^o	95-47-6	3.090	3.93E-03	1182	1174	(A)	19.6	20.6	n.s.
Total							231.3	103.5	
Alcohols									
2-methyl-1-propanol ^o	78-83-1	0.770	1.35E-05	1077	1082	(A)	n.d.	112.5	***
3-pentanol ^o	584-02-1	1.260	2.84E-05	1110	1112	(B)	11.5	9.0	*
2-pentanol	6032-29-7	1.260	2.15E-05	1117	1124	(A)	43.0	30.6	*
1-butanol*	71-36-3	0.840	9.89E-06	1138	1148	(A)	175.6	48.9	**
3-methyl-1-butanol ^{ks}	123-51-3	1.260	1.07E-05	1206	1213	(A)	18.2 ^z	710.8 ^z	**
8-2-methyl-1-butanol ^{ks}	137-32-6	1.260	1.64E-05	1208	1213	(A)			
1-pentanol ^o	71-41-0	1.330	1.47E-05	1244	1253	(B)	n.d.	19.1	***
2-decanol	1120-06-5	3.710	2.72E-05	n.f.	1285	(C)	46.3	t	**
(E)-2-penten-1-ol	1576-96-1	1.120	6.52E-06	1316	1313	(B)	n.d.	5.6	***
(Z)-2-penten-1-ol*	1576-96-0	1.120	6.52E-06	1326	1321	(B)	n.d.	52.8	***
1-hexanol*	111-27-3	1.820	1.72E-05	1354	1365	(A)	15.07	31.6	**
(E)-3-hexen-1-ol ^o	928-97-2	1.610	7.72E-06	1356	1365	(A)	t	13.0	*
(Z)-3-hexen-1-ol*	928-96-1	1.610	7.72E-06	1378	1376	(A)	t	7.2	**
1-octanol ^o	111-87-5	2.810	2.08E-05	1557	1560	(A)	n.d.	6.4	***
Total							309.6	1047.0	
Aromatic alcohol									
2-phenylethanol*	60-12-8	1.570	1.78E-07	1893	1888	(A)	n.d.	16.9	***
Aldehydes									
Hexanal*	66-25-1	1.800	3.58E-04	1075	1078	(A)	t	26.8	***
Heptanal*	111-71-7	2.290	4.53E-04	1183	1180	(A)	n.d.	55.7	*
Nonanal ^{ks}	124-19-6	3.270	8.02E-04	1392	1382	(A)	n.d. ^z	26.6 ^z	**
8-hexanal ^{ks} (isomer)	-	-	-	-	1382	(C)			
(E,Z)-2,4-heptadienal	4313-02-4	1.860	2.19E-05	1455	1449	(B)	n.d.	12.8	**
(E,E)-2,4-heptadienal	4313-03-5	1.860	2.19E-05	1483	1473	(B)	n.d.	14.4	***
Total							t	136.3	
Aromatic Aldehyde									
Benzaldehyde*	100-52-7	1.710	2.31E-05	1496	1495	(A)	n.d.	6.6	***

6 Impact of drying on volatile composition A. Bonneau et al.

Table 2 (Continued)

Compound	CAS no.	LogP ^a	HLC ^b	RI ^c DBWAX		ID ^d	Relative quantities (µg kg ⁻¹ DM) ^e		Significance ^f
				Lit	Exp		Fresh fruit	Dried fruit	
Ketones									
2-heptanone*	110-43-0	1.730	3.44E-04	1160	1116	(B)	30.4	t	***
3-hydroxy-2-butanone ^g	513-86-0	-0.360	2.79E-07	1272	1271	(A)	113.5	204.3	*
4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone	123-42-2	-0.340	1.15E-07	1385	1347	(A)	10.5	18.2	**
Total							154.3	222.5	
Esters									
Butyl butanoate*	109-21-7	2.830	1.08E-03	1228	1214	(A)	30.2	11.6	**
3-methylbutyl butanoate*	106-27-4	3.250	1.79E-03	1267	1261	(A)	13.1	30.3	*
Total							43.3	41.9	
Furans									
Mesifuran (MDMF) ^g	4077-47-8	0.620	1.66E-06	1584	1577	(B)	16.9	t	***
2-pentylfuran*	3777-69-3	3.870	5.22E-03	1231	1227	(B)	n.d.	5.2	***
2-furfural*	98-01-1	0.830	5.48E-06	1456	1447	(A)	n.d.	62.8	***
5-methylfurfural ^g	620-02-0	1.380	3.41E-06	1560	1551	(A)	n.d.	4.0	*
Total							16.9	72.0	
Lactones									
α-methyl-γ-butyrolactone ^g	1679-47-6	0.110	7.70E-07	1576	1557	(B)	15.4	n.d.	***
γ-butyrolactone*	96-48-0	-0.310	7.47E-08	1619	1593	(A)	712.8	971.4	*
γ-hexalactone ^g	695-06-7	0.600	7.70E-07	1694	1664	(A)	140.8	9.8	***
δ-hexalactone ^g	823-22-3	0.600	8.68E-07	1770	1747	(B)	155.9	8.4	***
δ-octalactone ^g	698-76-0	1.590	1.41E-06	1964	1927	(A)	87.3	3.2	**
Total							1112.1	992.8	
Total volatiles (µg kg ⁻¹ DM)							27358.5	11274.0	

^aLogP(o/w) octanol-water partition coefficient (at 25 °C) (EPI SUITE software version 4.11).

^bHLC Henry's law constant (atm.m³ mol⁻¹ at 25 °C) (EPI SUITE software version 4.11). HLC is the product of the coefficient activity of the targeted compound in water and its saturated vapour pressure.

^cRI retention index of aroma compounds from databases (Flavornet; Pherobase; The LRI and Odour Database).

^dID identification (A) mass spectra database from NIST (NIST, 2011), RI and injection of standard (positive identification), (B) mass spectrum, RI (tentative identification), (C) only mass spectrum.

^eSemi-quantification of aroma compounds vs. an internal standard (4-nonanol) and expressed in ng per g of dry matter (ng g⁻¹ DM) in fresh and dried fruit.

^fSignificance, analysis of variance (ANOVA) with the honestly significant difference (HSD) in a Tukey test at different significance levels (XLSTAT software): (n.s.) no significant difference between dried and fresh fruit (α > 5%); (*) significant difference with α < 5%; (**) significant difference with α < 1%; (***) significant difference with α < 0.1%.

Symbols: (\$) coelution of aroma compound; (n.d.) aroma compound was not detected; (t) aroma compound was found in trace quantity

(t < 3.0 µg kg⁻¹ DM); (-) data are missing; (n.f.) data are not found in the literature; volatile compounds previously found in literature in mango cv. Kent (♣) or in mango cultivars others than cv. Kent (◊) (Pino *et al.*, 2005; Pino & Mesa, 2006; Pandit *et al.*, 2009a).

4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone in Malaysian soursop (Cheong *et al.*, 2011).

In contrast to previous findings regarding volatile compounds from cv. Kent, some potent odorants were not detected, such as β-ionone, β-damascenone and (E,Z)-2,6-nonadienal. Various factors can impact the aromatic profile of mango fruits, that is environmental conditions (Kulkarni *et al.*, 2012), fruit ripening conditions (Lalel *et al.*, 2003a; Pandit *et al.*, 2009b), storage conditions (Beaulieu & Lea, 2003) or intrafruit aroma heterogeneity (Lalel *et al.*, 2003b). Besides, extraction techniques to isolate volatile compounds can, through chemical and enzymatic reactions, lead to the generation of volatile compounds that were not present in

the initial product. β-ionone, a potent flavour compound, was detected in fresh mango fruits from several cultivars, including cv. Kent (Pino & Mesa, 2006; Pino, 2012), whereas it was absent in the extracts assessed in the present study. In the aforementioned studies, this compound could have been generated at the elevated temperature used to extract volatiles by the SDE technique through oxidative cleavage of β-carotene (Kanasawud & Crouzet, 1990). Fruits from some mango cultivars were reported to contain β-ionone on the basis of the analysis of aroma extracts obtained by the SAFE technique (Munafa *et al.*, 2014). As this technique involves quite gentle extraction conditions, β-ionone may not be considered as a

compound generated during extraction process. The occurrence of carotene oxygenase, leading to β -ionone via the cleavage of β -carotene, was reported in several fruits, such as quince, nectarine and star fruit (Baldermann *et al.*, 2005). To our best knowledge, no data have been reported yet regarding the presence of carotene oxygenase in mango cultivars. Some aldehydes, such as heptanal, nonanal and heptadienal isomers, were not detected in fresh fruit in the present study. They could also be generated through chemical and enzymatic reactions during flavour extract preparation from fatty acids under oxygen and heat (Belitz *et al.*, 2009b).

Noteworthy changes occurred in the volatile profile of mango fruit following drying (Table 2). A total of fifty four volatile compounds were identified, including 36 that were positively identified. These included eleven monoterpene hydrocarbons, four sesquiterpene hydrocarbons, one norisoprenoid, fifteen alcohols, one aromatic alcohol, three ketones, two esters, five aldehydes, one aromatic aldehyde, four furans, four lactones and three nonterpene hydrocarbons. The levels of fifty compounds were significantly different ($P \leq 0.05$) between fresh and dried mango. New compounds were generated and substantial losses occurred.

The total amount of volatiles decreased by about 58.8%. It was $27.4 \text{ mg kg}^{-1} \text{ DM}$ in fresh fruit compared to $11.3 \text{ mg kg}^{-1} \text{ DM}$ in dried fruit. Monoterpene hydrocarbons (73.7%) were again the major volatile compounds (Fig. 3), with δ -3-carene being the most abundant (66.6%). Alcohols (9.3%), mainly 3-methyl-1-butanol and 2-methyl-1-butanol (6.3%), and lactones (8.8%) were amongst the predominant compounds.

Under drying, considerable losses occurred with regard to almost all terpenoids, except for β -pinene and (*E*)- β -ocimene. The total monoterpene concentration was 24.8 mg kg^{-1} in fresh mango but 8.3 mg kg^{-1} in dried mango and that of sesquiterpenes was 0.8 mg kg^{-1} in fresh mango and 0.3 mg kg^{-1} in dried mango. The losses could be explained by the physico-chemical properties of terpenoids detected in

mango. They are all hydrocarbons and readily prone to losses by evaporation because of their high Log *P* values and high Henry's law constant (Table 2). Clear declines in terpenoids were also observed during dried nectarine preparation in drying conditions similar to those used in the present work (Sunthonvit *et al.*, 2007). Note that the aforementioned paper reported only the total terpenoid amount without consideration of the behaviour of individual compounds.

Regarding aliphatic alcohols, the 3-pentanol, 2-pentanol, 1-butanol and 2-decanol concentration significantly decreased while that of 3-methyl-1-butanol, 2-methyl-1-butanol, 1-hexanol and (*Z*)-3-hexen-1-ol increased following drying. Some compounds appeared, that is 2-methyl-1-propanol, 1-pentanol, (*E*) and (*Z*)-2-pentene-1-ol and 1-octanol. In dried grapes, an increase in alcohols such as 2-methyl-1-propanol has also been observed (Franco *et al.*, 2004). Alcohol losses may be explained by their evaporation during drying. The increase or generation of alcohols could be due to acidic hydrolysis of the corresponding glycosides favoured by the temperature applied during drying (60 °C). Importantly, aliphatic alcohols such as 1-hexanol and (*Z*)-3-hexen-1-ol have been identified in the glycosidic fraction of mango fruits (Lalel *et al.*, 2003c). Acceleration of acido-catalysed hydrolysis of glycosides under elevated temperatures is well documented in the literature (Winterhalter & Skouroumounis, 1997). The Henry's law constant was quite similar for the different aliphatic alcohols detected in the current study. Consequently, it can be assumed that the extent of their losses by evaporation during drying was similar. Losses of these compounds during drying may have been largely counterbalanced through the release of alcohols from glycosides as their total amount was 1.6 mg kg^{-1} in dried fruits but 0.3 mg kg^{-1} in fresh fruits.

2-phenylethanol was not detected in fresh fruit but appeared following drying. Hydrolysis of relevant glycosidic conjugates may explain the formation of this compound. This alcohol has been detected in the glycosidically bound fraction of mango fruits (Adedeji *et al.*, 1992; Lalel *et al.*, 2003c). Similarly in dried grapes, generation of 2-phenylethanol was also observed under drying (Franco *et al.*, 2004).

In contrast to fresh fruit, benzaldehyde was found in dried mango. It may be formed by benzyl alcohol oxidation. This alcohol was not detected in fresh fruit. However, it could be generated by hydrolytic release of its glycoconjugate during drying. Glycosidically bound benzyl alcohol was already reported in mango fruits (Adedeji *et al.*, 1992; Lalel *et al.*, 2003c). Benzaldehyde was also observed in dried nectarines (Sunthonvit *et al.*, 2007) and plums (Sabarez *et al.*, 2000). Its formation in dried nectarines was explained by the hydrolysis of amygdalin, its glycosidic precursor,

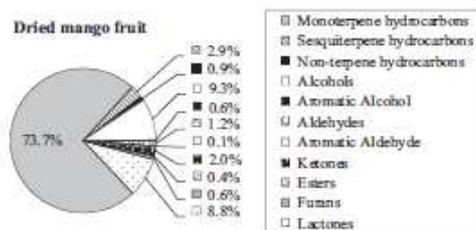


Figure 3 Distribution (%) of chemical class of aroma compounds in dried mango.

during drying (Sabarez *et al.*, 2000). No data were available regarding the occurrence of amygdalin in mango. This glucoside is often reported in stone fruits (Aubert & Milhet, 2007). Hence, its occurrence in mango may not be excluded.

Amongst norisoprenoid compounds, β -ionone was only observed in dried mango, but at trace levels (less than $3 \mu\text{g kg}^{-1}$). The detection of β -ionone in dried mango may be linked to the oxidative cleavage of β -carotene accelerated by the temperature applied during drying. In model studies, it was demonstrated that β -carotene degradation under heat treatment generates β -ionone (Kanasawud & Crouzet, 1990). Heating of mango pulp also generated this compound (Sakho *et al.*, 1985). Drying of nectarines also led to its formation (Sunthonvit *et al.*, 2007).

Several aliphatic aldehydes, such as heptanal, nonanal and 2,4-heptadienal isomers, appeared under drying. Drying induced an increase in the hexanal level. Drying nectarines and peppers has also led to the formation of aliphatic aldehydes (Sabarez *et al.*, 2000; Sunthonvit *et al.*, 2007). Aldehyde generation was probably due to the degradation of unsaturated fatty acids during drying. It is well documented that oleic acid degradation leads to the formation of nonanal, that of linolenic acid to hexanal and heptanal, and that of linolenic acid to 2,4-heptadienal isomers (Belitz *et al.*, 2009b). δ -hexalactone, γ -hexalactone, δ -octalactone and α -methyl- γ -butyrolactone levels dropped dramatically following drying, while that of γ -butyrolactone increased. The latter was the major lactone in fresh and dried mango. Similarly, in nectarines (Sunthonvit *et al.*, 2007) and grapes (Franco *et al.*, 2004) some lactones were reported to decrease while others increased following drying. Lactone losses may be due to thermal degradation rather than their evaporation. Indeed, Henry's law constant values of lactones were amongst the lowest of all volatile compounds from mango. The increase in the γ -butyrolactone level could be initiated by the hydrolytic release of 4-hydroxybutanoic acid from relevant glycoconjugated precursor during drying. Further interesterification of this hydroxy fatty acid yields γ -butyrolactone. Two lactones were detected in the glycosidically bound fraction of fresh mango from cv. Kensington Pride (Lalel *et al.*, 2003c). Glycoconjugated hydroxy fatty acid precursors of lactones have also been reported in quince fruit (Lutz & Winterhalter, 1992).

Heat treatment markers, that is 5-methylfurfural, furfural and 2-pentylfuran, were found in dried mango. Generation of 5-methylfurfural and furfural in dried grapes (Franco *et al.*, 2004), that of furfural in dried plums (Sabarez *et al.*, 2000) and that of 2-pentylfuran in dried nectarines (Sunthonvit *et al.*, 2007) has also been observed. These compounds are well-known products of Maillard or caramelisation reactions. Their

formation in the present study may have involved Maillard reactions rather than caramelisation reactions as the temperature applied was at a moderate level. Furthermore, 2-pentylfuran could have been generated from linoleic acid under drying (Mandin *et al.*, 1999). Mesifuran was the only furan observed in fresh mango but was significantly degraded during drying.

Amongst the two esters detected, the 3-methylbutyl butanoate level increased from fresh fruit to dried fruit, while the level of butyl butanoate decreased. Nonterpene hydrocarbon levels dropped following drying, probably due to their evaporation. Indeed, they had a quite high Henry's law constant. On the other hand, 3-hydroxy-2-butanone and 4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone levels increased following drying. Hydrolysis of their possible glycosidic precursors may explain this enrichment.

Potential flavour contributors in fresh and dried mango

Significant changes in the composition of volatiles from fresh to dried mango could induce differences in flavour perception. OAVs were determined to gain insight into the contribution of the volatile compounds to the flavour of fresh and dried mango (Table 3). The amount of volatiles in fresh and dried mango, measured as fresh weight equivalents, was considered. The odour threshold of the compounds in water was derived from the literature. Eight compounds were found to be potential contributors in both products, as their OAVs were over 1. Amongst them, five and four terpenoids are observed in fresh and dried mango, respectively. Four of them were common in both products. α -phellandrene presented an OAV of slightly higher than 1 only in fresh mango. Limonene, which develops citrus, green and ethereal notes, had the highest OAV amongst terpenoids, that is 10.6 and 16.2 in fresh and dried mango, respectively. It was followed in decreasing order of OAVs by β -myrcene, δ -3-carene, β -caryophyllene and α -phellandrene in both products. These compounds confer citrus, green, terpenic, ethereal, woody and resinous notes to mango. The data presented here were in agreement with previous studies. δ -3-carene, α -phellandrene, β -myrcene, limonene and β -caryophyllene were reported with OAV > 1 in fresh fruit from cv. Kent (Pino & Mesa, 2006). In other mango cultivars, they were suggested to be flavour contributors, thanks to their high flavour dilution (FD) factor or to the high OAVs of aroma extracts issued from SAFE (Munafó *et al.*, 2014) or SDE techniques (Pino, 2012). β -pinene, α -terpinene, β -phellandrene, γ -terpinene, (*E*)- β -ocimene and α -terpinolene did not seem to contribute to the flavour of cv. Kent as their OAVs were less than 1. By contrast, in some other mango cultivars, (*E*)- β -ocimene and α -terpinolene were considered to be potent odorants, with citrus

Table 3 Aroma compounds in fresh and dried fruit and their odour potential

Compounds	Odour threshold ^d	Odour description ^e	OAV Exp ^f			
			Fresh fruit	Dried fruit	OAV Lit ^{g,h}	FD Lit ⁱ
Monoterpene hydrocarbons						
β-pinene	140 ^{A,D}	Woody, pine, resin, turpentine, green	<0.1	0.1		
δ-3-carene	770 ^A	Citrus fruit, citrus peel, lemon, orange	5.2	8.5	5.01 ^A ; 80 ^B	128 ^B
α-phellandrene	40 ^A	Citrus, herbaceous, juniper, turpentine, spice	1.0	1.0	39.81 ^A	
β-myrcene	15 ^{A,C,D}	Woody, resinous, musty, balsamic, ethereal	5.2	13.7	25.12 ^A ; 28 ^B	64 ^B ; 4-128 ^C
α-terpinene	85 ^C	Lemon, ethereal, chemical	0.2	0.2		
Limonene	10 ^D	Citrus, lemon, orange, green, ethereal	10.6	15.3	1.26 ^A ; 47 ^B	128 ^B
β-phellandrene	500 ^B	Herbaceous, turpentine, terpenic, minty	<0.1	0.1		
γ-terpinene	260 ^C	Citrus, herbaceous, turpentine, terpenic	<0.1	<0.1		
(E)-β-ocimene	34 ^E	Citrus, herbaceous, sweet	0.1	0.5		4-128 ^C
α-terpinolene	200 ^{A,D}	Woody, anisic, sweet	1.0	0.9	1 ^A ; 230 ^B	512 ^B
Sesquiterpene hydrocarbons						
α-copaene	n.f.	Woody, earthy, spicy	-	-		
α-gurjunene	n.f.	Woody, earthy, balsamic	-	-		
β-caryophyllene	64 ^{A,B}	Woody, green, spicy, terpenic	1.5	2.9	2 ^A ; 72 ^B	64 ^B
α-caryophyllene	160 ^A	Woody, oily	0.2	0.5		
Norisoprenoids						
β-ionone	0.007 ^A	Violet, raspberry, floral, seaweed, artificial	n.d.	t	2511.89 ^A ; 450 ^B	256 ^B ; 32-512 ^C
Nonterpene hydrocarbons						
Toluene	n.f.	Chemical, synthetic, solvent	-	-		
m-xylene	n.f.	Plastic, green, pungent	-	-		
o-xylene	n.f.	Fatty, geranium	-	-		
Alcohols						
2-methyl-1-propanol	40 000 ^A	Wine, licorice, alcoholic, chemical	n.d.	<0.1		
3-pentanol	n.f.	Fruit, green	-	-		
2-pentanol	n.f.	Green, fruity, chemical, sweet	-	-		
1-butanol	500 ^{A,F}	Fruit, floral, medicinal, sweet	<0.1	<0.1		
3-methyl-1-butanol ⁵	300 ^{A,D}	Balsamic, whisky, malt, pungent, onion, cheese	5	5		
Et 2-methyl-1-butanol ⁵	300 ^A	Fatty, wine, malty, onion				
1-pentanol	4000 ^B	Balsamic, green, sweet, pungent	n.d.	<0.1		
2-decanol	n.f.	Aniseed, coconut	-	t		
(E)-2-pentanol-1-ol	n.f.	Mushroom	n.d.	-		
(Z)-2-pentanol-1-ol	720 ^C	Green, plastic, rubber	n.d.	<0.1		
1-hexanol	500 ^A	Fatty, green, grass, resin, flower, sweet	<0.1	<0.1		
(E)-3-hexen-1-ol	110 ^C	Green, moss, fresh	t	0.1		
(Z)-3-hexen-1-ol	70 ^D	Green, grass, fruity	t	<0.1		
1-octanol	190 ^B	Fatty, green, toasted, burnt, chemical	n.d.	<0.1		
Aromatic Alcohol						
2-phenylethanol	1100 ^A	Floral (rose, lilac), honey, spicy, sweet	n.d.	<0.1		4-128 ^C
Aldehydes						
Hexanal	4.5 ^{A,H,I}	Fatty, grass, green, tallowy	t	5.2	15.85 ^A ; 2 ^B	32 ^B ; 8 ^C
Heptanal	3 ^A	Fatty, rancid, citrus, green, dry fish, heavy	n.d.	18.2	6.31 ^A	
Nonanal ⁵	1 ^{A,B}	Fatty, wax, citrus, green, floral, sweet, soapy	n.d.	5	19.95 ^A ; 10 ^B	32 ^B
(E,Z)-2,4-heptadienal	n.f.	Fatty, fried, tallowy	n.d.	-		
(E,E)-2,4-heptadienal	n.f.	Fatty, nutty, hay	n.d.	-		
Aromatic Aldehyde						
Benzaldehyde	350 ^{A,I}	Bitter almond, burnt sugar	n.d.	<0.1		
Ketones						
2-heptanone	140 ^{A,D}	Fatty, toasted, nutty, gravy, blue cheese	<0.1			
3-hydroxy-2-butanone	8000 ^A	Fatty, butter, cream, rancid	<0.1	<0.1		
4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone	n.f.	n.f.	-	-		

Table 3 (Continued)

Compounds	Odour threshold ^f	Odour description ^g	OAV Exp ^h			
			Fresh fruit	Dried fruit	OAV Lit ⁱⁱⁱ	FD Lit ^d
Esters						
Butyl butanoate	110 ^{ce}	Fruity, sweet, fresh	<0.1	<0.1		
3-methylbutyl butanoate	0.13 ^a	Fruity, banana, apricot, sweet	18.4	204.0		
Furans						
Mesifuran (MDMF)	0.03 ^a	Caramel, sweet	102.8	t	3 ^b	32 ^b ; 4-126 ^d
2-pentylfuran	6 ^{ae}	Fatty, butter, warm, sweet	n.d.	0.8		
2-furfural	3000 ^{af}	Almond, caramel, honey, roasted, fatty	n.d.	<0.1		
5-methylfurfural	1110 ^f	Almond, caramel, coffee, roasted, warm	n.d.	<0.1		
Lactones						
α -methyl- γ -butyrolactone	n.f.	Woody	-	n.d.		
γ -butyrolactone	35 ^f	Caramel, sweet	3.7	24.3		
γ -hexalactone	260 ^h	Coumarin, sweet	0.1	<0.1		
δ -hexalactone	n.f.	n.f.	-	-		
δ -octalactone	400 ^{fa}	Sweet	<0.1	<0.1		32-512 ^d

^fOT odour threshold in water (ppb) found in the literature with references: (a) (Pino & Mesa, 2006), (b) (Pino, 2012), (c) (Boonbumrung et al., 2001), (e) (Ferreira et al., 2000), (f) (Belitz et al., 2009a), (g) databases (Leffingwell & Associates, 2008; The LRI and Odour Database), (h) (Du et al., 2010), (i) (Castro-Vazquez et al., 2008), (j) (Tamura et al., 2001).

^gOdour description found in the literature with databases (Flavornet; Pherobase; The LRI and Odour Database).

^hOAV experimental odour activity value obtained by dividing the concentration of each aroma compound by its OT in water.

ⁱⁱⁱOAV odour activity value (unitless) in the literature with references: (a) (Pino & Mesa, 2006), (b) (Pino, 2012).

^dFD flavour dilution factor (unitless) in the literature with references: (b) (Pino, 2012), (d) (Munafa et al., 2014).

Symbols: (\$) coelution of aroma compound, (n.f.) data not found in the literature, (n.d.) aroma compound was not detected in mango product, (t) aroma compound was found in trace quantity (OAV could not be estimated), (-) odour threshold not found in the literature (OAV could not be estimated), (i-\$) coelution of aroma compound (OAV could not be estimated).

and green notes due to the high FD factors in aroma extracts determined by SAFE (Munafa et al., 2014) or SDE techniques (Pino, 2012) (Table 3). Odour thresholds of α -copaene and α -gurjunene had not been previously reported, which hindered determination of their OAVs.

Mesifuran developing a caramel and sweet odour gave the highest OAV (102.8) in fresh mango. It has been reported amongst flavour contributors in fresh mango when considering the FD factor or OAV (Pino, 2012; Munafa et al., 2014). Its participation in the flavour of dried mango can be excluded because of its drastic loss during drying. 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3 (2H)-furanone (HDMF), which was reported to be amongst most potent odorants in some mango cultivars thanks to the high FD factor, was not detected in the current study. Furan compounds, 5-methylfurfural, furfural and 2-pentylfuran generated in dried mango were not detected at levels exceeding their odour threshold. However, their potential participation in the roasted and caramel odour of this product should not be overlooked as the synergistic effect of odorants at subthreshold concentrations in a mixture has been reported (Laska & Hudson, 1991). γ -butyrolactone and 3-methylbutyl butanoate presenting high OAVs

and developing caramel, sweet and fruity notes may intervene in the flavour of fresh and dried mango. 3-methylbutyl butanoate displaying fruity and sweet attributes was the volatile compound with the highest OAV (204.0) in dried mango.

Amongst aldehydes, that is heptanal and hexanal, which appeared following drying and presenting fatty, grass and green notes, are possible odour-active compounds in dried mango as they yielded high OAVs.

OAVs of some compounds like β -ionone, 2-decanol and 2-heptanone could not be determined as they were detected at trace levels. Amongst them, β -ionone is probably the best candidate for influencing the flavour of dried mango due to its very low odour threshold (0.2 $\mu\text{g kg}^{-1}$) (Pino, 2012). Furthermore, some compounds, such as 3-methyl-1-butanol with 2-methyl-1-butanol, were coeluted, thus hindering the determination of their concentration.

2-Phenylethanol and δ -octalactone reported as active-aroma compounds in some mango cultivars (Munafa et al., 2014) and yielded low OAVs in cv. Kent in the current study (Table 3).

Despite losses of volatile compounds during drying, OAVs of several compounds were found to be higher in dried mango than in fresh mango. This may be

attributable to the increased dry matter following the drying process.

Conclusion

Significant losses of volatile constituents of fresh mango occurred following the drying process in the conditions similar to those used in the industry. Drying reduced the amount of many of volatile compounds, including monoterpenes, sesquiterpenes, aliphatic alcohols and lactones, which are considered as impact odorants. Their decline may be explained by their evaporation and degradation during the drying process. Meanwhile, some aliphatic alcohols and an aromatic alcohol, that is 2-phenylethanol, appeared and the concentration of some other aliphatic alcohols also increased. The hydrolysis of relevant glycosides under high temperature during drying was suggested to induce such flavour compound enrichment. A follow-up of glycosidically bound volatiles in mango under drying conditions could provide evidence in support of this assumption. As expected, dried mangoes contained thermally generated compounds, that is 2-furfural, 5-methylfurfural and 2-pentylfuran. When OAVs of the volatile compounds were examined, eight compounds could be considered as potent odorants in each mango product. Limonene, β -myrcene, δ -3-carene, β caryophyllene, γ -butyrolactone and 3-methylbutyl butanoate were common potent odorants in fresh and dried fruit. In contrast to fresh mango, aliphatic aldehydes, hexanal and heptanal gave high OAVs in dried mango. On the other hand, amongst furan derivatives, only mesifuran exhibited a high OAV and only in fresh mango.

Sensory studies based on aroma reconstitution and omission tests using volatile compounds with an OAV of over 1 but also including some others presenting OAVs of less than 1 would help gain further insight into the flavour contributors. Indeed, an additive effect has been found for mixtures containing volatile compounds at concentrations below their odour threshold (Escudero *et al.*, 2004).

Acknowledgments

Staff of the CIRAD pilot unit are gratefully thanked for mango processing, Marc Valente and Jacques Joas from UMR Qualisud for their helpful suggestions for mango fruit physiology and Karine Gourrat from INRA Dijon for her advice regarding the SAFE technique.

References

Adedeji, J., Hartman, T.G., Lech, J. & Ho, C.T. (1992). Characterization of glycosidically bound aroma compounds in the African

mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **40**, 659–661.

Andrade, E.H.A., Maia, J.G.S. & Zoghbi, M.D.G.B. (2000). Aroma volatile constituents of Brazilian varieties of mango fruit. *Journal of Food Composition and Analysis*, **13**, 27–33.

AOAC (2000). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 2200 pages. Pp. 912–914. Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemists, Inc.

Aubert, C. & Milhet, C. (2007). Distribution of the volatile compounds in the different parts of a white-fleshed peach (*Prunus persica* L. Batsch). *Food Chemistry*, **102**, 375–384.

Baldermann, S., Naim, M. & Fleischmann, P. (2005). Enzymatic carotenoid degradation and aroma formation in nectarines (*Prunus persica*). *Food Research International*, **38**, 833–836.

Beaulieu, J.C. & Lea, J.M. (2003). Volatile and quality changes in fresh-cut mangos prepared from firm-ripe and soft-ripe fruit, stored in clamshell containers and passive MAP. *Postharvest Biology and Technology*, **30**, 15–28.

Belitz, H.-D., Grosch, W. & Schieberle, P. (2009a). Aroma compounds. In: *Food Chemistry* (edited by Springer). Pp. 340–402. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Belitz, H.-D., Grosch, W. & Schieberle, P. (2009b). *Food Chemistry*. 1070 pages. Pp. 158–247. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Boonbumrung, S., Tamura, H., Mookdassanit, J. *et al.* (2001). Characteristic aroma components of the volatile oil of yellow keaw mango fruits determined by limited odor unit method. *Food Science and Technology Research*, **7**, 200–206.

Caparino, O.A., Tang, J., Nindo, C.I., Sablani, S.S., Powers, J.R. & Fellman, J.K. (2012). Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine 'Carabao' var.) powder. *Journal of Food Engineering*, **111**, 135–148.

Castro-Vazquez, L., Diaz-Maroto, M.C. & Perez-Coello, M.S. (2006). Volatile composition and contribution to the aroma of spanish honeydew honeys. Identification of a new chemical marker. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **54**, 4809–4813.

Cheong, K.W., Tan, C.P., Mirhosseini, H. *et al.* (2011). Optimization of equilibrium headspace analysis of volatile flavor compounds of Malaysian soursop (*Annona muricata*): comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry (GC \times GC-TOFMS). *Food Chemistry*, **125**, 1481–1489.

De Sousa Galvão, M., Narain, N., do Socorro Porto dos Santos, M. & Nunes, M.L. (2011). Volatile compounds and descriptive odor attributes in umbu (*Spondias tuberosa*) fruits during maturation. *Food Research International*, **44**, 1919–1926.

Du, X., Finn, C.E. & Qian, M.C. (2010). Volatile composition and odour-activity value of thornless 'Black Diamond' and 'Marion' blackberries. *Food Chemistry*, **119**, 1127–1134.

Escudero, A., Gogorza, B., Melus, M., Ortin, N., Cacho, J. & Ferreira, V. (2004). Characterization of the aroma of a wine from Maccabeo. Key role played by compounds with low odor activity values. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **52**, 3516–3524.

Ferreira, V., López, R. & Cacho, J.F. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80**, 1659–1667.

Flavornet (2004). <http://www.flavornet.org/flavornet.html>. Accessed 10 August 2015.

Fonero, D.P., Orrego, C.E., Peterson, D.G. & Osorio, C. (2015). Chemical and sensory comparison of fresh and dried lulo (*Solanum quitoense* Lam.) fruit aroma. *Food Chemistry*, **169**, 85–91.

Franco, M., Peinado, R.A., Medina, M. & Moreno, J. (2004). Off-vine grape drying effect on volatile compounds and aromatic series in must from Pedro Ximenez grape variety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 3905–3910.

Grosch, W. (2001). Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission. *Chemical Senses*, **26**, 533–545.

- Hasan, F.A., Al-Sheraji, S.H. & Ismail, A. (2013). Dried mangoes: phytochemicals, antioxidant properties, and health benefits. In: *Dried Fruits: Phytochemicals and Health Effects*. (edited by C. Alasalvar & F. Shahidi) Pp. 457–470. Chichester: John Wiley & Sons Inc.
- Kanasawud, P. & Crouzet, J.C. (1990). Mechanism of formation of volatile compounds by thermal degradation of carotenoids in aqueous medium. 1. β -Carotene degradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **38**, 237–243.
- Kulkarni, R.S., Chidley, H.G., Pujari, K.H., Giri, A.P. & Gupta, V.S. (2012). Geographic variation in the flavour volatiles of Alphonso mango. *Food Chemistry*, **130**, 58–66.
- Lalel, H.J.D., Singh, Z. & Tan, S.C. (2003a). Aroma volatiles production during fruit ripening of 'Kensington Pride' mango. *Postharvest Biology and Technology*, **27**, 323–336.
- Lalel, H.J.D., Singh, Z. & Tan, S.C. (2003b). Distribution of aroma volatile compounds in different parts of mango fruit. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, **78**, 131–138.
- Lalel, H.J.D., Singh, Z. & Tan, S.C. (2003c). Glycosidically-bound aroma volatile compounds in the skin and pulp of 'Kensington Pride' mango fruit at different stages of maturity. *Postharvest Biology and Technology*, **29**, 205–218.
- Laska, M. & Hudson, R. (1991). A comparison of the detection thresholds of odour mixtures and their components. *Chemical Senses*, **16**, 651–662.
- Leffingwell & Associates (2008). <http://www.leffingwell.com/odor-thre.htm>. Accessed 10 August 2015.
- Lutz, A. & Winterhalter, P. (1992). Isolation of additional carotenoid metabolites from quince fruit (*Cydonia oblonga* Mill.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **40**, 1116–1120.
- Mandin, O., Duckham, S.C. & Ames, J.M. (1999). Volatile compounds from potato-like model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, 2355–2359.
- Munafò, J.P. Jr, Didzhalis, J., Schnell, R.J., Schieberle, P. & Steinhaus, M. (2014). Characterization of the major aroma-active compounds in mango (*Mangifera indica* L.) cultivars Haden, White Alphonso, Praya Sowoy, Royal Special, and Malindi by application of a comparative aroma extract dilution analysis. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **62**, 4544–4551.
- NIST, National Institute of Standards and Technology (2011). <http://webbook.nist.gov/>. Accessed 10 August 2015.
- Pandit, S.S., Chidley, H.G., Kulkarni, R.S., Pujari, K.H., Giri, A.P. & Gupta, V.S. (2009a). Cultivar relationships in mango based on fruit volatile profiles. *Food Chemistry*, **114**, 363–372.
- Pandit, S.S., Kulkarni, R.S., Chidley, H.G. et al. (2009b). Changes in volatile composition during fruit development and ripening of 'Alphonso' mango. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **89**, 2071–2081.
- Pherobase (2014). <http://www.pherobase.com/database/compound/compounds-index.php>. Accessed 10 August 2015.
- Pino, J.A. (2012). Odour-active compounds in mango (*Mangifera indica* L. cv. Corazón). *International Journal of Food Science and Technology*, **47**, 1944–1950.
- Pino, J.A. & Mesa, J. (2006). Contribution of volatile compounds to mango (*Mangifera indica* L.) aroma. *Flavour and Fragrance Journal*, **21**, 207–213.
- Pino, J.A., Mesa, J., Muñoz, Y., Martí, M.P. & Marbot, R. (2005). Volatile components from mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **53**, 2213–2223.
- Pott, I., Neidhart, S., Mühlbauer, W. & Carle, R. (2005). Quality improvement of non-sulphited mango slices by drying at high temperatures. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **6**, 412–419.
- Sabarez, H.T., Price, W.E. & Korth, J. (2000). Volatile changes during dehydration of d'Agen prunes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 1838–1842.
- Sakho, M., Crouzet, J. & Seck, S. (1985). Evolution des composés volatils de la mangue au cours du chauffage. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, **18**, 89–93.
- Sunthonvit, N., Szrednicki, G. & Craske, J. (2007). Effects of drying treatments on the composition of volatile compounds in dried nectarines. *Drying Technology*, **25**, 877–881.
- Tamura, H., Boonbumrung, S., Yoshizawa, T. & Varanyanon, W. (2001). The volatile constituents in the peel and pulp of a green Thai mango, Khieo Sawoei Cultivar (*Mangifera indica* L.). *Food Science and Technology Research*, **7**, 72–77.
- Tharanathan, R.N., Yashoda, H.M. & Prabha, T.N. (2006). Mango (*Mangifera indica* L.). "The King of Fruits" – an overview. *Food Reviews International*, **22**, 95–123.
- The LRI and Odour Database <http://www.odour.org.uk/index.html>. Accessed 10 August 2015.
- Valente, M., Prades, A. & Laux, D. (2013). Potential use of physical measurements including ultrasound for a better mango fruit quality characterization. *Journal of Food Engineering*, **116**, 57–64.
- Winterhalter, P. & Skouromounis, G.K. (1997). Glycoconjugated aroma compounds: occurrence, role and biotechnological transformation. In: *Biotechnology of Aroma Compounds* (edited by T. Scheper). Pp. 73–105. Erlangen: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

c) Résumé et résultats principaux obtenus

La sélection des mangues, pour confectionner les produits d'étude, s'est opérée suivant l'aspect (calibre, remplissage du fruit, etc.) et l'indice de fermeté (indice durofel) des fruits. Ces précautions ont permis de constituer un lot de mangues homogène en termes de maturité et de maturation.

L'étude des COVs de la mangue fraîche (purée) et séchée (poudre) en SAFE/GC-MS a permis de mettre en évidence l'impact du séchage sur le profil aromatique du fruit frais. Les résultats obtenus démontrent que le séchage induit une perte importante des COVs originels du fruit frais, et parallèlement génère de nouveaux COVs.

Les profils aromatiques des produits de mangue frais et séchés, confectionnés à partir du cultivar Kent, comptent majoritairement des composés terpéniques. Le δ -3-carène est, de loin, le composé et le monoterpène le plus abondant des produits de mangue suivi de l' α -terpinolène, du limonène, du β -myrcène, de l' α -phellandrène et du β -phellandrène. Le β -caryophyllène et l' α -caryophyllène sont, quant à eux, les sesquiterpènes les plus abondants. La classe chimique des terpènes est significativement impactée par le séchage avec une perte importante de ces COVs.

Les lactones et les alcools sont les classes chimiques les plus présentes après les composés terpéniques. La γ -butyrolactone est la lactone la plus abondante dans la mangue Kent fraîche et séchée. Le butan-1-ol est davantage marqué dans la mangue fraîche tandis que le 2-méthylpropan-1-ol, le 3-méthyl et 2-méthylbutan-1-ol, et le (*z*)-pent-2-èn-1-ol sont davantage présents dans la mangue séchée. D'autres classes chimiques communes aux 2 produits comme les hydrocarbures non-terpéniques, les cétones et les esters définissent également le profil aromatique des produits de mangue. Tout comme les terpènes, une perte significative de lactones et d'alcools spécifiques ainsi que d'hydrocarbures non-terpéniques est observée. A l'inverse, le séchage génère l'apparition de nouveaux composés tels que les aldéhydes, les furanes, les alcools et aldéhydes aromatiques.

Les pertes en composés au cours du séchage sont avant tout expliquées par le potentiel volatil et hydrophobe des molécules (Log P, HLC). La génération de nouveaux composés est due à des réactions de dégradation de précurseurs d'arôme. Ainsi, la dégradation d'acides gras insaturés peut générer des aldéhydes ; l'hydrolyse acide de glycoconjugués peut donner des alcools, des acides et des acides-alcools précurseurs des lactones, les réactions de Maillard ou de caramélisation donnent des furanes.

Les résultats SAFE/GC-MS obtenus sur purée de mangue fraîche Kent sont globalement similaires aux données de la littérature pour ce cultivar (Pino & Mesa, 2006; Pino, Mesa, *et al.*, 2005). Les différences qualitatives et quantitatives observées entre les données expérimentales SAFE/GC-MS et les précédents travaux de la littérature sur Kent, peuvent venir soit de la méthode d'extraction utilisée (SE, SDE, SPME, P&T, etc.) ou bien de la matière première utilisée (origine géographique, degré de maturité/maturation, etc.)

Les composés aromatiques clés de la mangue sont décrits dans de nombreux travaux menés en GC-O (FC, FD/AEDA, notes olfactives, etc.) et mentionnés dans la littérature (Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2014; Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2016; Pino, 2012; Pino & Mesa, 2006). Ainsi, les OAVs des composés extraits ont été calculées et comparées aux données GC-O de la littérature sur mangue afin de mettre en évidence les composés aromatiques qui pourraient être clés dans l'arôme des produits de mangue frais et séchés. Ainsi, d'après le calcul des OAVs, le β -myrcène, le δ -3-carène, le β -caryophyllène, la γ -butyrolactone, et le 3-méthylbutyle butanoate peuvent contribuer à l'arôme de la mangue fraîche et séchée. Le mésifurane participerait, quant à lui, spécifiquement à l'arôme de la mangue fraîche, tandis que, l'hexanal et l'heptanal seraient spécifique à l'arôme de la mangue séchée. Au regard des données de la littérature (Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2014; Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2016; Pino, 2012; Pino & Mesa, 2006), l' α -phellandrène, le β -ocimène, l' α -terpinolène, la β -ionone, le 2-phenyléthanol, le nonanal et la δ -octalactone peuvent aussi être des contributeurs de l'arôme de mangue en raison de leur valeurs OAV et FD importantes citées dans ces travaux. Les composés terpéniques (β -myrcène, δ -3-carène, β -caryophyllène, α -phellandrène, β -ocimène, α -terpinolène) peuvent contribuer à apporter des notes aromatiques citrus, vertes, terpéniques, boisées et résineuses au profil aromatique des produits de mangue. Le mesifurane, la γ -butyrolactone, δ -octalactone développent des notes sucrées et de caramel. Le 3-méthylbutyle butanoate contribue à la présence de notes fruitées ; les aldéhydes (hexanal et heptanal nonanal) à des notes grasses, vertes, et rances ; la β -ionone et le 2-phenyléthanol à des notes florales.

Ainsi, en affectant la quantité et la nature des COVs présents dans le profil aromatique des produits de mangue, le séchage tend aussi à impacter grandement la perception aromatique des produits.

4.3. Conclusion

La méthode de sélection des mangues mise en place pour obtenir des lots de fruits homogène a été appliquée à l'ensemble des lots de fruits de l'étude. Ces précautions sont notamment importantes pour obtenir d'une part, des produits frais de mangue (purée/cubes), et d'autre part, des produits séchés de mangue (poudre/cubes) qui puissent être comparables d'un point de vue aromatique mais différents d'un point de vue matriciel pour la suite des travaux à mener en *in vivo* sur la libération et sur la perception des COVs.

De même, la méthode SAFE/GC-MS mise en place a permis d'obtenir des résultats satisfaisants quant à la description du potentiel aromatique des produits de mangue. Cette méthode a été appliquée aux autres produits de mangue de l'étude confectionnés pour les travaux *in vivo* et *in vitro* à mener.

PARTIE 2 : La libération des composés d'arôme en conditions *in vivo* et *in vitro*

Dans la littérature, deux méthodes sont décrites quant au suivi de la libération des composés d'arôme, en condition *in vivo*, lors de la consommation d'un produit :

- la méthode de suivi des composés d'arôme *en continu*. Les COVs libérés de la matrice par voie rétronasale, et expirés dans les effluves nasales du sujet, sont directement analysés en temps réel de consommation produit par spectrométrie de masse à ionisation douce de type PTR-MS ou API-MS (Frank, Appelqvist, *et al.*, 2011; Frank, Eyres, *et al.*, 2012; Tarrega, Yven, *et al.*, 2008).
- la méthode de suivi des composés d'arôme *en discontinu*. Les COVs exhalés par le sujet par voie rétronasale sont extraits à l'aide d'une technique de piégeage de type SPME ou RATD, puis sont analysés en GC-MS (Ingham, Linforth, *et al.*, 1995; Munoz-Gonzalez, Martin-Alvarez, *et al.*, 2014a; Pionnier, Sémon, *et al.*, 2005).

Dans le cas de matrices complexes, telles que des fruits, le suivi des COVs en continu par PTR ou API-MS peut être délicat. En effet, la complexité aromatique des fruits tend à rendre les résultats difficiles d'interprétation. Le suivi et l'identification des COVs sont basés sur la recherche de l'ion pseudo-moléculaire m/z caractéristique de chaque molécule mais bien souvent commun aux molécules de même poids moléculaire tels que des monoterpènes (137 m/z), des sesquiterpènes (205 m/z), des esters (117 m/z ; butanoate d'éthyle, l'acétate de butyle), des aldéhydes (87 m/z ; 2-méthylbutanal, 3-méthylbutanal) ou tout autre isomère. Dans ce contexte, le suivi *in vivo* des COVs en continu est réalisé par groupes de molécules de même ion pseudo-moléculaire m/z plutôt que par molécules définies, une perte de l'information est donc notable. De plus, la quantité de COVs exhalée par le sujet est déterminante pour pouvoir observer ces molécules en SM. Les résultats obtenus dépendent donc aussi de la sensibilité du SM et de la richesse aromatique du fruit.

Les études précédemment menées sur fruits, avec un suivi continu *in vivo* des COVs, ont ainsi été limitées dans le choix des molécules à suivre, tant de par les difficultés d'identification des COVs (ions moléculaires communs), que des quantités de COVs analysées (composés traces). Ainsi sur kiwi, Friel, Wang, *et al.* (2007) ont pu suivre 9 COVs en PTR-MS contre 32 COVs identifiés en P&T/GC-MS. Sur pomme, Ting *et al.* (2016; 2012)

ont suivi bon nombre d'ions pseudo-moléculaires m/z qu'ils ont attribué à des groupes de molécules de mêmes poids moléculaires. Sur orange et carotte, Frank, Eyres, *et al.* (2012) ont suivi le butanoate d'éthyle (117 m/z) et des ions moléculaires communs aux composés terpéniques. L'introduction récente sur le marché des techniques PTR-TOF-MS et Fast-GC-PTR-TOF-MS pourra permettre des études plus poussées et précises sur la libération *in vivo* des COVs sur matrices de fruits. Ces appareils étant très coûteux, l'accès à ces techniques de pointes est donc difficile.

Les méthodes de suivi discontinu par piégeage *in vivo* peuvent être une bonne alternative aux méthodes de suivi continu dans le cas de matrice complexe de type fruit. En effet, l'identification des COVs est établie, sans ambiguïté, grâce à l'analyse des COVs par GC-MS. De plus, l'extraction des COVs sur une période de temps donnée, permet de concentrer et d'identifier des COVs à l'état de trace qui, à l'inverse, ne sont pas détectés en suivi continu (PTR-MS). Ainsi, suivant la richesse du profil aromatique du fruit, les COVs ont plus de chance d'être détectés en suivi *in vivo* discontinu qu'en continu. Les méthodes de piégeage *in vivo* ont déjà fait leur preuve sur des matrices réelles et modèles (vins, fromage, chewing-gum) aux arômes complexes (composés terpéniques, esters, alcools, aldéhydes, etc.), (Delahunty, Piggott, *et al.*, 1996; Ingham, Linforth, *et al.*, 1995; Linforth & Taylor, 1993; Muñoz-González, Rodríguez-Bencomo, *et al.*, 2014). Par extrapolation, ces méthodes ont également été utilisées pour des suivis en discontinu des COVs en conditions *in vitro* à l'aide de simulateurs de dégustation produit (Arvisenet, Billy, *et al.*, 2008; Van Ruth, King, *et al.*, 2002; Van Ruth & Roozen, 2000). L'inconvénient majeur des suivis *in vivo* et *in vitro* en discontinu, reste cependant l'absence d'information concernant la cinétique de libération des COVS.

Comme décrit précédemment (cf. Résultats et Discussions, Partie 1, §4.2), le profil aromatique de la mangue Kent fraîche et séchée, compte principalement des mono et sesquiterpènes qui contribuent pour beaucoup à l'arôme mangue (Bonneau, Boulanger, *et al.*, 2016; Pino, 2012; Pino & Mesa, 2006; Pino, Mesa, *et al.*, 2005). Ainsi, pouvoir étudier séparément chaque composé terpénique en dégustation *in vivo* serait une information intéressante et non négligeable. Les autres classes chimiques (lactones, alcools, esters, furanes, etc.), présentes en quantité moindre dans l'arôme de mangue, seraient tout aussi intéressantes à suivre en *in vivo* car elles contribuent elles aussi à la particularité aromatique des produits frais et séchés. Ainsi, utiliser une méthode de piégeage *in vivo* qui puisse concentrer suffisamment ces composés et les rendre détectables en SM serait une stratégie

intéressante. Par conséquent, dans le cadre de ces travaux de thèse, le choix d'une méthode de suivi *in vivo* discontinu apparaît comme plus judicieux au regard des travaux précédemment menés sur fruits et au regard des produits de l'étude.

Cette 2^{ème} partie *Résultats & Discussions* est consacrée aux travaux de thèse menés sur la libération des composés volatils d'arôme de mangue, en condition *in vivo*, au cours de la dégustation.

Dans un 1^{er} temps, la technique de suivi *in vivo* discontinu par SPME décrite par Pionnier, Sémon, *et al.* (2005) a été testée et adaptée aux travaux de thèse. De même, dans un 2^e temps, la technique RATD décrite par bon nombre d'auteurs (Buettner & Schieberle, 2000a; Delahunty, Piggott, *et al.*, 1996; Ingham, Linforth, *et al.*, 1995; Muñoz-González, Rodríguez-Bencomo, *et al.*, 2014) a aussi été choisie pour étudier la libération *in vivo* des COVs. Plusieurs tests d'optimisation et de validation de protocole ont été menés. Seuls les protocoles *in vivo* exploitables pour ces 2 techniques de piégeage ont été appliqués sur les produits de mangue.

Enfin, pour comprendre une partie des résultats *in vivo* obtenus, des expériences ont été menées en condition *in vitro* afin d'évaluer l'effet de la salive humaine sur la libération des COVs.

Les résultats *in vivo* et *in vitro* obtenus sur la libération des composés d'arôme des produits de mangue sont décrits ci-après.

4.4. Étude de la libération des composés d'arôme en condition *in vivo*

4.4.1. Suivi de la libération *in vivo* des composés d'arôme par SPME/GC-MS

La 1^{ère} méthode *in vivo* testée et utilisée pour suivre la libération des composés d'arôme en cours de dégustation est l'extraction SPME *in vivo* couplée à l'analyse GC-MS.

Dans un 1^{er} temps, il a été nécessaire de choisir une fibre SPME adaptée pour les expériences *in vivo*. Pour cela, des tests en conditions *in vitro* ont été réalisés sur plusieurs fibres SPME. Une fois la fibre SPME choisie, les montages et le protocole SPME *in vivo* ont été testés et optimisés en vue d'étudier la libération *in vivo* des COVs des produits de mangue.

a) Choix d'une fibre SPME

Les fibres SPME testées en condition *in vitro* présentent des phases PDMS, PDMS/DVB, PDMS/CAR, DVB/CAR/PDMS. Leur potentiel d'extraction a été évalué en réalisant des extractions SPME sur une purée de mangue fraîche à une température de 37 °C (température de la cavité buccale), avec une phase d'équilibre de 10 min. et une phase d'extraction de 30 min. Dans ces conditions d'extraction, les composés majoritairement extraits sont des mono et sesquiterpènes. Les résultats SPME/GC-MS obtenus pour ces composés majoritaires et pour les étalons internes utilisés sont présentés dans les tableaux ci-contre. Le Tableau 11 présente la moyenne des aires brutes des pics chromatographiques (TIC) obtenue pour chaque composé et pour chaque fibre sur les 4 répétitions réalisées. Le Tableau 12 a été obtenu à partir des données du Tableau 11 par calcul du potentiel d'extraction des fibres SPME, pour chaque composé et pour chaque fibre (cf, *Matériel et Méthode*, Partie 3, §3.8.2, p 83).

Les résultats ANOVA réalisés montrent que les fibres PDMS/DVB et DVB/CAR/PDMS sont celles qui présentent la plus grande affinité pour les composés d'arôme de la mangue, notamment pour les monoterpènes. Le composé polaire (*E*)-non-2-ène et l'étalon nonan-4-ol sont eux aussi davantage extraits par ces deux fibres. Les sesquiterpènes α - et β -caryophyllène ainsi que l'étalon α -cédrène sont autant extraits par les 4 fibres SPME.

Tableau 11. Test d'extractabilité des COVs d'une purée de mangue fraîche par SPME *in vitro* pour 4 fibres SPME test (résultats bruts TIC).

Composé i	Moyenne des aires brutes (TIC) par composé i et par fibre F _j A(i, F_j)				Total des aires brutes (TIC) par composé i Σ A(i, F)
	PDMS/DVB	PDMS	PDMS/CAR	DVB/CAR/PDMS	
δ-3-carène	1084742923 a	257825174 b	1120543196 a	1069253171 a	3532364466
β-myrcène	42429087 a	7799742 c	12609705 c	25597128 b	88435663
α-terpinène	9872250 b	1755900 d	5863142 c	12556891 a	30048185
Limonene	36370582 a	8627234 c	17900867 b	33087402 a	95986086
γ-terpinène	1638414 b	452797 c	t d	1808332 a	3899544
β-ocimène	3274471 b	688593 c	t d	2122192 a	6085257
Monoterpène inconnu	6934103 b	2156916 c	t d	4476507 a	13567527
α-terpinolène	69486537 b	19788779 c	15623375 c	42143086 a	147041778
nonan-4-ol (EI)	37659248 b	9485766 d	16173539 c	43856251 a	107174807
(E)-non-2-ène	11430516 a	3003137 c	1796097 d	5748269 b	21978020
α-cédrène (EI)	43764289 a	40445460 a	24728765 b	43304015 a	152242530
β-caryophyllène	56801134 a	21945189 b	17915830 b	22524730 b	119186885
α-caryophyllène	9238162 a	7955822 b	5818193 c	7775028 b	30787206
Total des aires brutes (TIC) par fibre F _j Σ A(F_j)	1413641721 a	381930511 c	1238972713 b	1314253006 ab	4348797952 Σ A(F)

Légende :

A(i, F_j) soit l'aire sous le pic chromatographique (TIC) du composé i pour la fibre j ; **Σ A(i, F)** soit la somme des aires TIC du composé i pour toutes les fibres ; **Σ A(F_j)** soit la somme des aires TIC des composés d'arôme majoritairement extraits pour la fibre j ; **Σ A(F)** la somme des aires TIC des composés d'arôme majoritairement extraits pour toutes les fibres

Les lettres **a, b, c, d** correspondent aux résultats des tests ANOVA avec test de Tukey HSD et un risque α de 5%.

Tableau 12. Potentiel d'extraction des 4 fibres SPME testées en condition *in vitro* sur purée de mangue fraîche.

Composé i	Potentiel d'extraction (%) par composé i et par fibre F _j P(i, F_j)			
	PDMS/DVB	PDMS	PDMS/CAR	DVB/CAR/PDMS
δ-3-carène	30.7 a	7.3 b	31.7 a	30.3 a
β-myrcène	48 a	8.8 c	14.3 c	28.9 b
α-terpinène	32.9 b	5.8 d	19.5 c	41.8 a
Limonene	37.9 a	9 c	18.6 b	34.5 a
γ-terpinène	42 b	11.6 c	t d	46.4 a
β-ocimène	53.8 b	11.3 c	t d	34.9 a
Monoterpène inconnu	51.1 b	15.9 c	t d	33 a
α-terpinolène	47.3 b	13.5 c	10.6 c	28.7 a
nonan-4-ol (EI)	35.1 b	8.9 d	15.1 c	40.9 a
(E)-non-2-èneal	52 a	13.7 c	8.2 d	26.2 b
α-cédrène (EI)	28.7 a	26.6 a	16.2 b	28.4 a
β-caryophyllène	47.7 a	18.4 b	15 b	18.9 b
α-caryophyllène	30 a	25.8 b	18.9 c	25.3 b
Potentiel d'extraction (%) par fibre F_j P(F_j)	32.5 a	8.8 c	28.5 b	30.2 ab

Légende :

P(i, F_j) soit le potentiel d'extraction de la fibre j pour le composé i vis-à-vis des autres fibres SPME testées ; **P(F_j)** soit le potentiel d'extraction de la fibre j vis-à-vis des autres fibres SPME testées pour les composés d'arôme majoritairement extraits.

Les lettres **a, b, c, d** correspondent aux résultats des tests ANOVA avec test de Tukey HSD et un risque α de 5%.

En considérant le total des composés d'arôme extraits, les deux fibres PDMS/DVB et DVB/CAR/PDMS, de par leur potentiel d'extraction, apparaissent donc comme les fibres SPME les plus adaptées pour l'étude de la libération *in vivo* des COVs.

b) Tests d'optimisation et de validation du protocole SPME *in vivo*

Les deux montages SPME *in vivo* (en « T » et en « T » avec restriction) et les deux fibres SPME (PDMS/DVB et DVB/CAR/PDMS) ont été appliqués sur les différents protocoles de dégustation (avec et sans pompe d'aspiration, avec 1 ou 2 min. de dégustation) sur purée de mangue fraîche avec deux panélistes.

Malgré tous les tests croisés réalisés, les résultats SPME/GC-MS obtenus n'ont pas été concluants. Les COVs libérés en *in vivo* qui ont été extraits sur fibres SPME et analysés en GC-MS ont été observés à l'état de traces. Ainsi, le δ -3-carène et le limonène ont pu être observés par recherche de leurs ions caractéristiques (68, 91, 93, 105, 121, 136 m/z). Cependant, les aires sous les pics chromatographiques (TIC ou bien EIC) des composés n'étaient pas assez importantes pour être intégrables et exploitables.

c) Conclusion

Les tests d'optimisation réalisés n'ont pas permis de mettre en place un protocole SPME *in vivo* exploitable. Les raisons de l'échec de l'application de cette technique pour ces travaux de thèse peuvent être en partie expliquées au regard des travaux menés précédemment.

Estelle Pionnier *et al.* (Pionnier, Chabanet, *et al.*, 2004; Pionnier, Sémon, *et al.*, 2005) ont appliqué la SPME *in vivo* sur fromages modèles dont l'arôme de synthèse contient uniquement des composés polaires (acide propanoïque, acide butyrique, heptan-2-one, heptan-2-ol, hexanote d'éthyle, diacétyle). Par extrapolation, Arvisenet, Billy, *et al.* (2008) ont appliqué la SPME *in vitro* dynamique sur des pommes dont les COVs relargués sont majoritairement des composés polaires (alcools, esters etaldéhydes). De plus, les temps de dégustation *in vitro* utilisés avec le simulateur (extractions *in vitro* des COVs sur 5, 10, 20 et 30 min) sont plus longs que le temps réel de dégustation d'un consommateur pour la même prise alimentaire. De même, Muñoz-González, Feron, *et al.* (2014) ont aussi réalisé de la SPME *in vitro* dynamique, mais sur du vin modèle dont l'arôme de synthèse contient de l' α -pinène, du β -pinène et du limonène (à 0.2-0.25mg/L soit des concentrations bien inférieures à celle de la mangue). Avec 2 min. d'extraction SPME à 36°C sans phase d'équilibre pré-requise, les auteurs ont réussi à extraire ces terpènes. La matrice du vin est

cependant bien éloignée d'une matrice de fruit, d'autant plus que la présence d'éthanol dans le vin favorise le relargage des COVs (Muñoz-González, Rodríguez-Bencomo, *et al.*, 2014).

Ainsi, la SPME *in vivo* appliquée dans cette étude de thèse, n'a pas pu être adaptée :

- aux paramètres de dégustation *in vivo* souhaités (temps de dégustation courts, proches de la réalité), observés comme bref comparés aux travaux précédents sur pomme (Arvisenet, Billy, *et al.*, 2008)
- à la quantité des COVs présents dans les produits de mangue de l'étude pour que ces derniers puissent être extraits en quantité suffisante pour pouvoir être détectés en GC-MS.

En parallèle de ces tests SPME *in vivo*, une autre méthode de piégeage a elle aussi été testée, et à l'inverse, a donné entièrement satisfaction pour le suivi de la libération *in vivo* des composés d'arôme de mangue. Il s'agit de la technique RATD couplée à la GC-MS.

4.4.2. Suivi de la libération *in vivo* des composés d'arôme par RATD/GC-MS

a) Tests d'optimisation et de validation du protocole

i) Test de la capacité de piégeage des tubes Tenax

Afin de limiter les biais expérimentaux liés au matériel d'extraction, les tubes Tenax ont été testés sur leur capacité de piégeage. Pour cela, deux tests ont été effectués en P&T *in vitro* sur solution modèle avec 6 COVs communément observés dans l'arôme de mangue afin d'évaluer les variations d'extraction intra- et inter-tubes.

Pour déterminer les variations intra-tubes, 3 tubes Tenax ont été utilisés en réalisant 4 extractions P&T par tube. Pour la variation inter-tubes, 10 tubes ont été soumis à une seule extraction P&T. Les résultats P&T/GC-MS obtenus sont présentés dans le tableau ci-contre (Tableau 13).

Les résultats obtenus concernant la variabilité intra-tube montrent des CV inférieurs à 10 % pour chaque COVs sur les 3 tubes Tenax, excepté sur le tube T-3100 pour le β -caryophyllène (20.2 %) et le tube T-3921 pour l' α -caryophyllène (11.3 %). Ces 2 derniers coefficients, un peu élevés et différents sur les 2 autres tubes, montrent que le protocole P&T mis en place au niveau du temps d'équilibre et d'extraction était peut-être un peu trop juste pour extraire de manière répétable les sesquiterpènes.

Tableau 13. Variabilités d'extraction intra- et inter-tubes Tenax observées en condition *in vitro* par P&T/GC-MS sur solution modèle.

Composés	Ions m/z intégrés	Moyenne des aires brutes EIC (somme des ions m/z sélectionnés)								
		Variabilité INTER-tubes* (10 tubes Tenax, 1 rép.)		Variabilité INTRA-tubes** (3 tubes Tenax, 4 rép.)						
		Moy	CV	T_3918		T_3921		T_3100		
				Moy	CV	Moy	CV	Moy	Moy	
Esters										
butanoate d'éthyle	60, 61, 70, 88	1787393	9.0	2119174	5.6	2468999	8.6	2359095	7.2	
butanoate d'isoamyle	70, 71	2443821	10.8	2541341	7.9	3023240	6.9	2989583	8.9	
Monoterpènes										
δ-3-carène	91, 93, 121, 136	1891828	15.5	2427092	4.3	2723880	7.2	2626189	5.1	
terpinolène	91, 93, 121, 137	2369403	13.8	2781126	4.1	3141939	9.7	3109491	4.4	
Sesquiterpènes										
β-caryophyllène	93, 121, 133, 161	921578	13.5	817310	6.5	1157436	9.1	1058918	20.2	
α-caryophyllène	80, 93, 121, 147	138289	19.1	117873	2.6	168514	11.3	162326	7.2	
Total des COVs extraits	/	9552312	11.0	10803915	2.3	12702976	6.6	12148179	5.1	

Légende :

*Variabilité inter-tubes, mesurée sur 10 tubes Tenax avec une extraction P&T par tube, exprimée par la moyenne des aires brutes EIC (somme des ions m/z sélectionnés) par COVs sur les 10 extractions P&T (CV, coefficient de variation, CV > 10%)

**Variabilité intra-tube, mesurée sur 3 tubes Tenax avec 4 extractions P&T par tube, exprimée par la moyenne des aires brutes EIC (somme des ions m/z sélectionnés) par COVs sur les 4 répétitions P&T par tube (CV, coefficient de variation, CV > 10%).

En considérant l'ensemble des COVs et le total des COVs extraits, la variabilité d'extraction intra-tube est donc bien inférieure à 10 %.

Pour ce qui est de la variabilité inter-tubes, les résultats obtenus montrent des CV entre 9 et 15.5% pour l'ensemble des COVs, excepté pour l' α -caryophyllène avec un CV de 19.1 %. Comme mentionné précédemment, le protocole P&T mis en place n'est pas assez reproductible pour l'extraction des sesquiterpènes. En revanche ce protocole est satisfaisant pour évaluer la capacité d'extraction des tubes pour les autres COVs. Sur le total des COVs extraits, la variabilité d'extraction inter-tubes obtenue est de 11 %.

En considérant les variations d'extraction intra- et inter-tubes mesurées, les tubes Tenax peuvent alors être comparés suivant leur capacité d'extraction pour le total des COVs extraits (Figure 36).

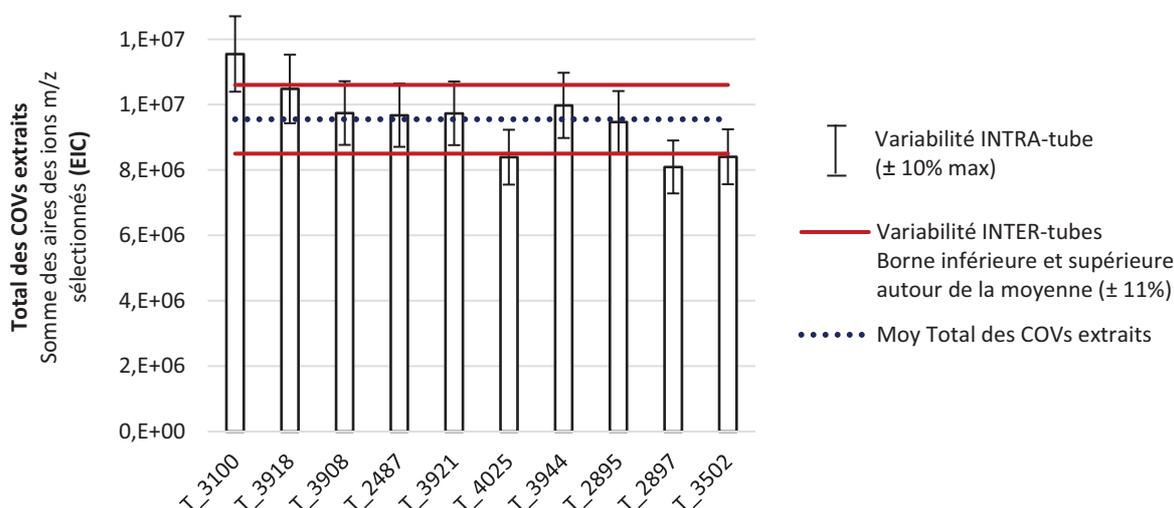


Figure 36. Variabilité d'extraction intra et inter-tubes sur le total des COVs extraits.

Les différences de capacité d'extraction entre chaque tube Tenax n'est donc pas significative au regard des variabilités intra-tubes (max. 10%) et inter-tubes (11%) sur le total des COVs extraits.

Toutefois, par précaution, certains tubes ont été écartés du lot des tubes Tenax utilisés pour les expériences comme le T-3100 ou le T-2897 (capacité d'extraction supérieure ou inférieure à $\pm 11\%$ de la moyenne du total des COVs extraits pour les 10 tubes Tenax).

De même, lors des expériences RATD *in vivo*, un ordre d'utilisation et une fonction précise ont été attribués à chaque tube Tenax de manière à introduire le moins de biais expérimentaux possibles. Les tubes ont ainsi été catégorisés en tant que tubes d'extraction des

blancs d'air sujet ou bien tubes d'extraction pour la dégustation des produits de mangue, et tout ceci avec un ordre d'utilisation précis pour les séances n°1, n°2, n°3 et n°4 de chaque session de dégustation produit.

ii) *Test de validation du débit d'extraction des COVs en RATD ou « test des tubes en série »*

Un test a été réalisé pour vérifier si le débit d'extraction de 500mL/min choisi pour les expériences RATD *in vivo* n'est pas trop fort et s'il ne génère pas de perte de composé d'arôme sur le tube Tenax d'extraction. Ce test a été réalisé en condition P&T *in vitro* sur solution modèle avec 6 COVs typiques de mangue, et avec 2 tubes Tenax montés en série (Tube n°1 et Tube n°2, Tableau 14). Ce test P&T *in vitro* a été pensé de telle sorte que la quantité de COVs extraite en *in vitro* sur le 1^{er} tube soit bien plus importante que celle obtenue en *in vivo* sur les produits de mangue. L'objectif du « test des tubes en série » est donc de mesurer, dans ces conditions d'extraction drastique, si des COVs ont été extraits ou non par le 2^{ème} tube du montage en série. Les résultats P&T/GC-MS obtenus sont présentés ci-après (Tableau 14).

Tableau 14. Test des « tubes en série » en condition *in vitro* par P&T/GC-MS sur solution modèle, (Test de validation du débit d'extraction de 500mL/min choisi en RATD *in vivo*).

Composé	Ions m/z intégrés	Somme des aires brutes EIC (somme des ions m/z sélectionnés)					
		Montage A		COVs perdus (%)	Montage B		COVs perdus (%)
		Tube n°1	Tube n°2		Tube n°1	Tube n°2	
Esters							
butanoate d'éthyle	60, 61, 70, 88	28725809	2517	0.01	32644341	8820	0.03
butanoate d'isoamyle	70, 71	46661607	1036	< 0.01	46712725	0	0
Monoterpènes							
δ-3-carène	91, 93, 121, 136	44661366	307293	0.68	49861112	1774991	3.44
terpinolène	91, 93, 121, 137	61827639	0	0	67211977	0	0
Sesquiterpènes							
β-caryophyllène	93, 121, 133, 161	17649293	0	0	18005784	0	0
α-caryophyllène	80, 93, 121, 147	3584427	41575	1.15	4046890	0	0
Total des COVs extraits	/	203110140	352420	0.17	218482828	1783812	0.81

Les résultats obtenus sur les 2 montages en série montrent que le 2^{ème} tube extrait une quantité négligeable de COVs. La perte en COVs est inférieure à 1 % pour tous les composés exceptée pour l' α-caryophyllène (1.15 %) sur le montage A et le δ-3-carène (3.4%) sur le montage B. Les quantités de COVs extraites en *in vitro* pour ce test sont de loin supérieures à celles extraites réellement en *in vivo* sur produits de mangue.

Ce test des tubes en série démontre donc que le débit d'extraction choisi de 500mL/min génère une perte infime de COVs. Ce débit est donc validé pour la suite des expériences RATD *in vivo* à mener.

iii) Test des temps de repos entre dégustations

Un test des temps de repos entre dégustations de 30 min. et 1 h ont été réalisés avec deux panélistes entraînés au protocole de dégustation RATD et avec une purée de mangue industrielle. L'objectif est de trouver un temps de repos suffisant entre les dégustations de produits pour que les panélistes puissent :

- retrouver une physiologie orale de repos et une neutralité aromatique en bouche avant de réaliser une nouvelle dégustation.
- être répétables sur les 4 dégustations à réaliser par produit d'étude
- Les résultats RATD/GC-MS obtenus sont présentés dans le tableau ci-contre (Tableau 15).

Les 2 panélistes ont libéré principalement des esters et des monoterpènes lors de la consommation de la purée industrielle de mangue en RATD *in vivo*. Les CV calculés sur les 4 dégustations de purée pour chaque temps de repos et chaque panéliste montrent qu'un temps de repos de 30 min. permet aux sujets d'avoir une libération *in vivo* des COVs plus répétable (CV < 30%). Les tests non-paramétriques menés montrent que le sujet J₄ libère autant de COVs quel que soit le temps de repos entre dégustation. En revanche, le sujet J₅ libère davantage d'esters (butanoate de butyle, butanoate d'éthyle, 3-méthylbutanoate d'éthyle, propanoate d'éthyle) et de β -myrcène lorsque le temps de repos entre dégustation est de 30 min.

Ainsi, de par la répétabilité des sujets et la quantité de COVs libérée en *in vivo*, le temps de repos entre dégustation de 30 min. semble être le meilleur compromis.

Tableau 15. Test des temps de repos entre dégustations produits en condition *in vivo* par RATD/GC-MS sur purée de mangue industrielle pour 2 panélistes du panel RATD.

Composé	Ion (m/z) ^a	Moyenne des aires brutes EIC (aire de l'ion m/z sélectionné) par g de purée ^b							
		Sujet J ₄				Sujet J ₅			
		Repos 1h		Repos 30 min		Repos 1h		Repos 30 min	
		Moy	CV	Moy	CV	Moy	CV	Moy	CV
<i>Esters</i>									
butanoate de butyle	71	17246	67.6	8071	13.0	8751 a	37.8	18754 b	26.3
acétate d'éthyle	61	67238	58.6	31443	13.3	36070	26.6	66566	24.9
butanoate d'éthyle	88	72053	70.5	32400	16.2	30245 a	42.7	75895 b	26.1
3-méthylbutanoate d'éthyle	88	3715	71.3	1717	20.1	1722 a	44.9	4225 b	27.4
propanoate d'éthyle	102	2308	68.0	1023	15.7	1007 a	38.6	2352 b	26.9
acétate d'hexyle	61	8182	61.7	4172	9.6	4783	30.9	7871	24.8
acétate de 3-méthylbutyle	70	96088	65.9	46711	14.0	49901	38.3	106689	25.4
butanoate de 3-méthylbutyle	71	14571	63.0	7282	10.1	8478	33.5	17095	26.0
acétate d'isopropyle	61	8009	64.1	2980	19.4	2948	38.9	1722	36.9
<i>Monoterpènes</i>									
α-pinène	93	45097	46.4	32376	26.0	27024	49.4	40698	27.9
β-myrcène	93	28895	54.9	18259	22.5	17051 a	40.3	41344 b	29.8
δ-3-carène	93	162599	52.7	111434	21.2	96833	39.8	178107	28.7
β-ocimène (isomère)	93	12204	57.6	7529	25.0	7126	37.2	6462	32.2
α-terpinolène	93	5326	59.7	2798	22.6	3169	34.0	6256	30.6
Total des COVs extraits	/	549718	59.0	311664	18.4	298655	37.6	577036	25.7

Légende :

^aIon caractéristique (m/z) choisi pour chaque composé, dont l'aire brute (EIC) est intégrée pour traiter les résultats RATD/GC-MS.

^bMoyenne (Moy) des aires brutes EIC (aire de l'ion m/z sélectionné) par gramme de purée consommée pour chaque composé et pour chaque temps de repos (1h et 30min.) sur les 4 dégustations de purée industrielle réalisée (CV, coefficient de variation, CV < 30%). Des tests non-paramétriques de Mann-Whitney avec un risque α de 5% ont été réalisés.

La Figure 37 ci-dessous présente, pour le sujet J₄, une partie des chromatogrammes obtenus lors des séances de dégustation de purée n°2 et n°3 lors d'un temps de repos entre dégustation de 30 min. Les blancs d'air sujet réalisés avant mise en bouche de la purée indiquent si le sujet a retrouvé une physiologie orale neutre en arôme suite à la dégustation produit précédente.

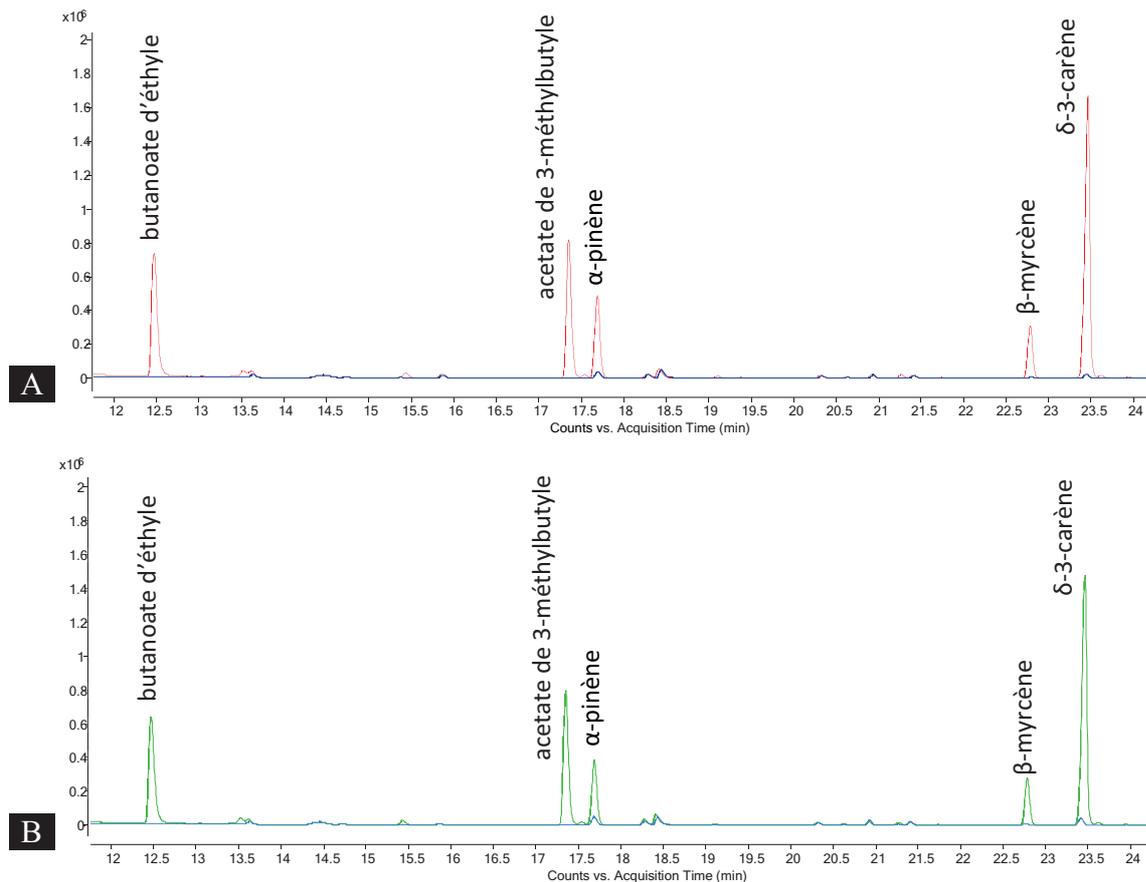


Figure 37. Exemples de chromatogrammes RATD/GC-MS obtenus suite au test du temps de repos entre dégustations de 30 min. pour le sujet J₄.

Légende :

Chromatogrammes obtenus (TIC) suite au test du temps de repos de 30 min. pour le sujet J₄ après extraction RATD *in vivo* des COVs sur la 2^{ème} et 3^{ème} séance de dégustation sur purée industrielle de mangue (4 séance de dégustations réalisées en tout). Un blanc de l'air du sujet est réalisé avant chaque dégustation produit (témoin de l'air naturel du sujet).

A Séance de dégustation n°2

(—) Blanc de l'air n°2 du sujet J₄

(—) Dégustation de purée n°2 du sujet J₄

B Séance de dégustation n°3

(—) Blanc de l'air n°3 du sujet J₄

(—) Dégustation de purée n°3 du sujet J₄

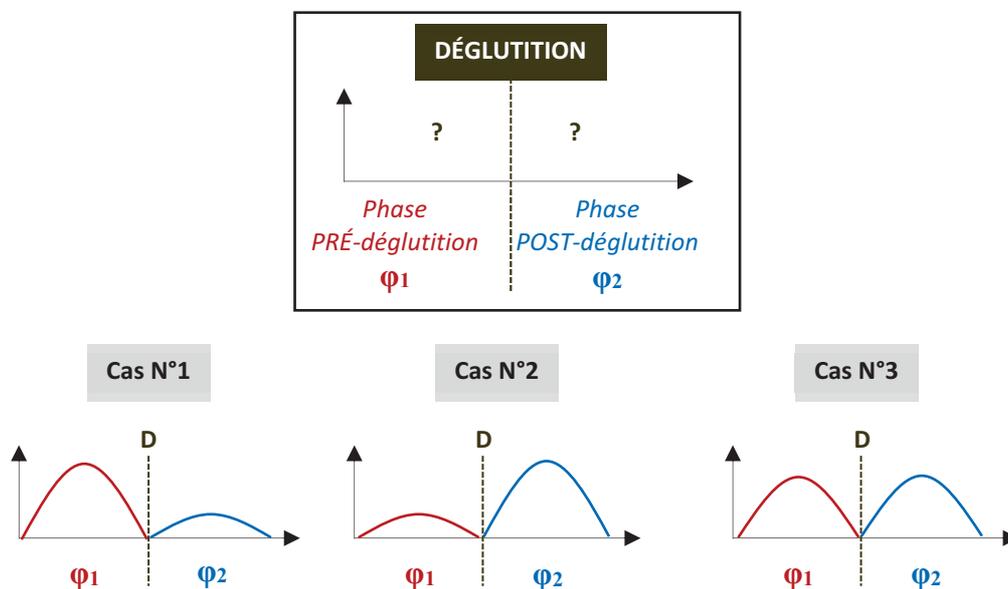
Il apparaît clairement que le sujet J₄ retrouve une neutralité aromatique en bouche entre les dégustations de purée suite à une période de repos de 30 min. (Figure 37). En effet, les blancs d'air sujet réalisés avant mise en bouche du produit sont suffisamment neutres. À noter cependant que le δ-3-carène et l'α-pinène sont un peu plus persistants en bouche.

Ce test des temps de repos entre dégustations produits montre donc qu'un repos de 30 min. est suffisant pour que les sujets retrouvent une physiologie orale de repos et une neutralité aromatique en bouche. Celui-ci permet aussi aux sujets d'avoir une libération *in vivo* des COVs répétables. Ce temps de repos de 30 min. est donc validé pour la suite des expériences à mener en RATD *in vivo*.

iv) Tests des montages RATD en phase pré- et post-déglutition

Le montage RATD double a été testé en 1^{er} lieu pour voir si l'étude des phases pré- et post-déglutition dissociées avait un intérêt au vu de l'objectif scientifique de thèse posé. Autrement dit, *la matrice du fruit (structurée/déstructurée) a-t-elle un impact sur la libération in vivo des COVs de mangue en phase pré- et post-déglutition ?*

Les différentes tendances de libération *in vivo* des COVs possibles, dans le cas où les phases pré- et post-déglutition seraient dissociées, sont présentées ci-contre (Figure 38).



Légende :

Les COVs sont libérés davantage en phase pré-déglutition φ₁ (Cas N°1), ou bien en phase post-déglutition φ₂ (Cas N°2), ou bien autant dans les phases pré- et post-déglutition (Cas N°3, pas de différences significatives entre les phases φ₁ et φ₂).

Figure 38. Les différentes tendances de libération *in vivo* des COVs possibles en phase pré- et post-déglutition.

Le test des phases mené en RATD double a sollicité 2 sujets du panel RATD à déguster 4 fois de la purée et des cubes de mangue industriels comparables. Les résultats obtenus en RATD double/GC-MS suite à ce test sont présentés ci-contre (Tableau 16).

Sur les 2 produits industriels dégustés, seulement 5 COVs libérés en *in vivo* par les sujets ont pu être extraits en quantité suffisante pour pouvoir être quantifiés. Ainsi, seuls les composés monoterpéniques β -myrcène, δ -3-carène, α -terpinène, m-cymène et terpinolène ont pu être suivis en *in vivo* pour procéder au test des phases. Le fait de dissocier les phases pré- et post-déglutition induit donc, indéniablement, des quantités de COVs extraites plus faibles pour chaque tube, et donc, une perte de signal en GC-MS comparé au RATD simple où l'extraction des COVs est opérée sur un seul tube.

D'après les résultats RATD double/GC-MS obtenus, la libération *in vivo* des COVs en phase φ_1 et en phase φ_2 n'est pas directement impactée par la forme structurée ou déstructurée du produit frais, mais est fonction du sujet. En effet, pour le sujet J₃, la libération *in vivo* des COVs est plus importante en phase φ_2 qu'en phase φ_1 , et ceci, quel que soit le produit frais consommé (purée ou cubes). Le sujet J₃ illustre donc le cas N°2 de la Figure 38 pour la libération *in vivo* des COVs sur les 2 produits industriels. Le sujet J₇, quant à lui, libère tout autant de COVs en phase φ_1 qu'en phase φ_2 quel que soit le produit frais dégusté. La libération *in vivo* des COVs pour le sujet J₇, sur les 2 produits industriels, illustre donc le cas N°3 de la Figure 38.

Des différences de libération *in vivo* des COVs en phase pré- et post-déglutition en fonction du sujet avaient déjà été relevées par Frank *et al.* (Frank, Appelqvist, *et al.*, 2011; Frank, Eyres, *et al.*, 2012) sur orange, carotte et émulsions aromatiques en PTR-MS. Les auteurs avaient aussi montré que, pour quelques sujets donnés, des différences de libération *in vivo* des COVs en phase pré- et post-déglutition en fonction de la matrice dégustée pouvaient être observées (orange en jus, gelée ou morceaux). Dans le cas des résultats expérimentaux obtenus en RATD double, cette observation n'a pas pu être confirmée sur purée et cubes de mangue industriels pour les 2 panélistes sollicités.

Tableau 16. Test des phases pré et post-déglutition menés en RATD double/GC-MS sur purée et cubes industriels de mangue (2 panélistes, 4 dégustations).

Composé	Quantité moyenne des COVs exhalés (ng/kg MS)*											
	Sujet J ₃						Sujet J ₇					
	Purée			Cubes			Purée			Cubes		
	φ ₁	φ ₂	Total (φ ₁ + φ ₂)	φ ₁	φ ₂	Total (φ ₁ + φ ₂)	φ ₁	φ ₂	Total (φ ₁ + φ ₂)	φ ₁	φ ₂	Total (φ ₁ + φ ₂)
β-myrcène ^s	6 ab	169 bc	174 c	32 a	109 c	140 c	403 bc	341 b	744 c	156 a	161 a	316 b
δ-3-carène ^s	70 ab	720 bc	789 c	261 a	432 bc	692 c	1416 cd	1181 c	2596 d	624 ab	502 a	1125 bc
α-terpinène ^s	18 a	148 bc	165 bc	0 ab	46 cd	46 d	517 cd	412 bc	928 d	273 ab	161 a	433 bc
m-cymène ^(SQ)	84 a	403 bc	486 cd	48 ab	242 de	290 e	1057 cd	894 bc	1951 d	547 ab	393 a	939 c
terpinolène ^s	598 a	3153 bc	3751 cd	400 ab	1440 d	1840 d	13143 cd	10755 bc	23897 d	6109 ab	3338 a	9447 bc
Total des COVs extraits	982 a	4650 b	5631 b	739 a	2674 ab	3413 b	16534 cd	13581 bc	30114 d	7707 ab	4553 a	12259 bc

Légende :

* Quantité moyenne des COVs exhalés (en ng/kg MS) en RATD double pour les 4 dégustations opérées par produit de mangue industriel et par panéliste RATD, avec :

- (φ₁) la phase pré-déglutition (32 sec.) ; (φ₂) la phase post-déglutition (32 sec. + 4 sec. de déglutition), (**Total**) la quantité totale de COVs libérés sur l'ensemble des phases (somme des phases φ₁ et φ₂, 68 sec.)
- des tests non-paramétriques de Kruskal-Wallis et de comparaison par paire de Conover-Iman avec correction de Bonferroni et un risque α de 5% (en bleu les différences significatives entre les phases φ₁ et φ₂, en vert les différences significatives entre produits de mangue sur le total des phases)

^sQuantification des composés (en ng/kg de MS) d'après les courbes de calibration réalisées.

^(SQ)Semi-quantification des composés (en µg équivalent d'α-cédrène /kg de MS).

En revanche, en considérant le total des phases (phase φ_1 + phase φ_2), il apparaît que la libération *in vivo* des COVs est fonction de la forme structurée ou déstructurée du produit frais consommé et non du sujet. En effet, le sujet J₃ libère davantage d' α -terpinène, m-cymène et terpinolène lors de la consommation de la purée de mangue que sur les cubes. Dans le même sens, le sujet J₇ libère les 5 COVs identifiés davantage sur la purée que sur les cubes, la même tendance est observée pour le total des COVs.

Ainsi, pour décrire l'impact de la texture des fruits sur la libération *in vivo* des COVs, il apparaît plus judicieux de réaliser une extraction RATD sur le total des phases plutôt que sur les phases pré- et post-déglutition séparée, soit, une extraction des COVs sur 68 sec. à l'aide du montage RATD simple (32 sec. phases pré-déglutition + 4 sec. déglutition + 32 sec. phases post-déglutition). De plus, travailler sur le total des phases par RATD simple permettra de concentrer davantage les COVs, et ainsi de multiplier les chances de pouvoir identifier et quantifier les COVs extraits à l'état de traces en GC-MS.

v) *Test de dépôt de l'étalon interne*

L'étalon interne α -cédrène a été déposé sur 6 tubes Tenax différents en même quantité. Les résultats d'analyse GC/MS après thermodésorption montrent que la moyenne des aires EIC de l'étalon (somme des ions caractéristiques 91, 93, 105, 161, 204 m/z) sur les 6 analyses présente un coefficient de variation de 3.6 %. Autrement dit, l'erreur expérimentale commise par l'expérimentateur lors du dépôt de l'étalon interne avec la microsiringue de précision est inférieure à 4 %. Le protocole de dépôt de l'étalon interne α -cédrène est donc satisfaisant car répétable et validé pour la suite des travaux de thèse.

b) Conclusion sur la technique RATD/GC-MS à appliquer à l'étude de la libération des composés d'arôme de mangue en condition *in vivo*

Au regard des travaux précédemment décrits dans la littérature, et des nombreux tests expérimentaux d'optimisation et de validation de protocole menés, un protocole RATD/GC-MS exploitable et satisfaisant a pu être mis en place pour mener à bien les travaux de thèse sur la libération *in vivo* ces COVs.

D'un point de vue protocole d'extraction, le montage RATD simple a été choisi au détriment du RATD double de par les données scientifiques intéressantes apportées par une extraction des COVs sur le total des phases pré- et post-déglutition (extraction des COVs sur 68 sec.). De plus, une extraction *in vivo* des COVs par RATD simple permet une meilleure concentration et une meilleure détection de ces derniers en GC-MS. En parallèle, le débit d'extraction RATD de 500mL/min et le matériel de piégeage utilisé (choix et utilisation des tubes Tenax) ont été testés afin d'introduire le moins de biais expérimentaux possibles (saturation des tubes/perte des COVs exhalés en cours d'extraction *in vivo*, variabilité d'extraction intra- et inter-tubes).

D'un point de vue protocole de dégustation, les travaux de Ting *et al.* (Ting, Romano, *et al.*, 2016; Ting, Soukoulis, *et al.*, 2012) ont permis de souligner l'importance de standardiser la physiologie orale des dégustateurs au cours de la consommation de produits présentant des textures différentes. En effet ces auteurs ont démontré, dans le cas d'un protocole de dégustation libre sur différentes variétés de pommes, que les panélistes adoptent un mode de dégustation différent en fonction de la fermeté des fruits (fréquence de mastication, nombre de déglutition, temps de dégustation, etc.). Or, les paramètres physiologiques oraux mis en jeu impactent grandement la libération *in vivo* des COVs. Ainsi, pour rendre comparable la libération *in vivo* des COVs sur les produits de mangue de l'étude, les panélistes doivent adopter un comportement de dégustation similaire, pour cela le protocole de dégustation a dû être imposé aux panélistes RATD. En référence aux travaux de Frank *et al.* (Frank, Appelqvist, *et al.*, 2011; Frank, Eyres, *et al.*, 2012), une animation visuelle a donc été créée pour standardiser les cycles de respiration, mastication et déglutition des sujets ainsi que le temps de consommation des produits. Cette animation a permis de limiter au mieux les variabilités physiologiques orales intra- et inter-individuelles en vue de rendre comparable et répétable la libération *in vivo* des COVs. Les panélistes RATD ont été amenés à réaliser plusieurs séances d'entraînement afin d'être à l'aise avec l'animation visuelle RATD et le protocole de dégustation imposés.

La composition du panel RATD a aussi été pensée avec le recul fait sur de précédents travaux mentionnés dans la littérature. Les 8 panélistes (3F/5H) choisis pour l'étude *in vivo* sont des personnes non-fumeuses. En effet, Sanchez & Sacks (2006) ont observé que les sujets fumeurs libéraient des COVs par voie rétronasale tels que des furanes (2,5-diméthylfurane, furan, 2-méthylfuran), et ceci, même au-delà de 2 heures après avoir fumé. Ainsi pour ne pas complexifier les analyses obtenues par RATD/GC-MS et introduire des composés spécifiques d'arôme de tabac qui pourraient être communs aux produits de mangue, le panel RATD ne compte aucune personne fumeuse. De même, le nombre et la distribution des âges des panélistes RATD ainsi que la parité homme/femme ont été respectés au mieux pour pouvoir obtenir des résultats statistiques fiables et robustes.

L'air naturellement expiré par les panélistes, en amont de chaque dégustation produit, a aussi été étudié en réalisant un blanc d'air sujet en suivant le même protocole d'extraction RATD que lors d'une dégustation produit (68 sec. d'extraction avec l'animation visuelle). En effet, comme mentionné dans la littérature, des COVs présents dans l'air naturel des sujets peuvent être communs à la matrice alimentaire étudiée en libération *in vivo* (Miekisch, Schubert, *et al.*, 2004; Phillips, Herrera, *et al.*, 1999; Sanchez & Sacks, 2006). Dans le cas de ces travaux de thèse, sur chaque 1^{er} blanc d'air sujet réalisé en amont de la 1^{ère} dégustation produit, 3 monoterpènes ont été observés pour tous les dégustateurs RATD en quantité variable : l' α -pinène, le β -pinène et le limonène. Ces composés ont également été reportés dans la littérature et observés dans l'air expiré par des sujets humains à l'aide d'une extraction par piégeage (Miekisch, Schubert, *et al.*, 2004; Phillips, Herrera, *et al.*, 1999). De plus, certains COVs présents dans les produits de mangue peuvent être persistants en bouche, et ceci, malgré le rinçage de la cavité orale et les temps de repos imposés entre 2 dégustations produits. C'est le cas du δ -3-carène, présent en quantité importante dans les produits de mangue, et retrouvé en petites quantités dans les blancs d'air sujet en amont des 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} dégustations produits. Ainsi, la soustraction des COVs des blancs d'air sujets aux COVs extraits par RATD/GC-MS lors des dégustations produits, permet de tenir compte uniquement de la quantité de COVs réellement libérée par les produits de mangue au moment de la dégustation.

Enfin, la physiologie orale des dégustateurs a aussi fait l'objet d'une attention particulière. En effet, pour rendre comparable la libération *in vivo* des COVs pour chaque répétition de dégustation produit, la physiologie orale des dégustateurs doit être la même pour toutes les dégustations afin de limiter au mieux les variabilités intra-individuelles physiologiques. Pour cela, la physiologie orale généralement recherchée en étude *in vivo* est

la physiologie orale dite de repos. Les protocoles de dégustation tiennent ainsi compte de temps de repos plus ou moins long entre chaque dégustation produit afin que les sujets puissent présenter une physiologie orale comparable entre chaque réplicat. En suivi continu en temps réel (PTR-MS), suivant les auteurs, plusieurs protocoles de répétition *in vivo* sont adoptés (nombre de réplicat, temps de repos, protocole de rinçage, etc.). Ainsi, pour comparer différents cultivars de pommes en *in vivo*, Ting, Soukoulis, *et al.* (2012) ont soumis les panélistes à 2 réplicats par pomme avec un temps de repos de 3 min. et un rinçage de la cavité orale entre les réplicats. Frank *et al.* (Frank, Appelqvist, *et al.*, 2011; Frank, Eyres, *et al.*, 2012), sur orange et carotte, ont demandé 4 réplicats avec, entre chaque, 30 sec. de repos sans procédure de rinçage. Quant à Munoz-Gonzalez, Martin-Alvarez, *et al.* (2014b) 2 réplicats sur différents vins ont été réalisés avec 2 h de temps de repos. Au vu des nombreux protocoles de répétition *in vivo* mentionnés dans la littérature, des tests de temps de repos de 30 min. et d'1h. ont été réalisés dans ces travaux de thèse. Le temps de repos de 30 min entre dégustations produits, associé à un protocole de rinçage de la cavité orale, ont donné entière satisfaction quant à la répétabilité des sujets sur la libération *in vivo* des COVs pour 4 répétitions (physiologie orale comparable entre les réplicats).

Ainsi, l'ensemble des précautions prises pour mettre en place le protocole d'extraction *in vivo* RATD/GC-MS et le protocole de dégustation produit ont finalement permis d'obtenir un protocole *in vivo* exploitable pour étudier l'impact de la texture de la mangue fraîche et séchée sur la libération *in vivo* des COVs, et ceci, malgré la contribution de facteurs non maîtrisables expérimentalement dans l'absolu (physiologie orale des dégustateurs, erreurs expérimentales dues au matériel, à l'opérateur, etc.).

4.4.3. Étude de l'impact de la texture des produits de mangue frais et séchés sur la libération *in vivo* des COVs par RATD/GC-MS

Le protocole RATD/GC-MS mis en place et validé précédemment a été appliqué aux produits de mangue frais et séché de l'étude pour étudier l'impact de la texture du fruit sur la libération *in vivo* des COVs. Les résultats obtenus ont été valorisés sous la forme d'un article en projet qui sera soumis sous peu dans une revue à facteur d'impact (Food Chemistry).

a) Présentation de l'étude

Un lot de mangues Kent homogène (50 mangues, en provenance de Côtes d'Ivoire) a été constitué afin d'obtenir des produits de mangue frais d'une part, et séchés d'autre part, avec des textures différentes mais des propriétés physicochimiques ($^{\circ}\text{Bx}$, pH, AT, a_w , MS) et aromatiques comparables. Ainsi, deux produits déstructurés (purée fraîche et poudre séchée de mangue) et deux produits déstructurés (cubes frais et séchés de mangue) ont été confectionnés. Les produits frais seront comparés entre eux d'une part, et les produits séchés seront comparés entre eux d'autre part, afin d'étudier l'impact de la texture de la mangue fraîche et séchée sur la libération *in vivo* des COVs.

Dans un 1^{er} temps, le potentiel aromatique des produits de mangue a été évalué par la technique SAFE/GC-MS mise en place et utilisée précédemment. L'extraction des COVs a été réalisée sur la purée fraîche et la poudre séchée de mangue pour caractériser le profil aromatique des produits de mangue frais et séchés. Au regard de la littérature sur mangue et du calcul des OAVs, les COVs clés potentiels de l'arôme des produits de mangue ont ainsi pu être mis en évidence.

Dans un 2^{ème} temps, la libération *in vivo* des COVs sur les produits de mangue de l'étude a été suivie à l'aide du protocole RATD/GC-MS mis en place et validé précédemment. Un panel de 8 sujets (3F/5H) a été entraîné sur une animation visuelle de dégustation. Celle-ci a permis de standardiser les cycles de respiration, mastication et déglutition des sujets ainsi que le temps de consommation des produits afin de limiter au mieux les variabilités physiologiques orales intra- et inter-individuelles. Les composés relargués en *in vivo* lors de la dégustation des produits de mangue ont été quantifiés. Les résultats obtenus ont été soumis à des tests statistiques non-paramétriques afin d'évaluer les différences de libération *in vivo* des COVs significatives entre produits frais d'une part, et séchés d'autre part.

Enfin, dans un dernier temps, une analyse sensorielle sur les produits de mangue a été réalisée avec un panel de sujets entraînés (10 personnes, dont 7 sujets du panel RATD). L'odeur, les saveurs, la texture et l'arôme des produits ont été évalués suivant une liste de descripteurs imposés et tirés de la littérature sur mangue.

L'ensemble des résultats obtenus ont permis de décrire l'impact de la texture de la mangue fraîche et séchée sur la libération et la perception aromatique *in vivo* des COVs.

b) Résultats obtenus sur l'impact de la texture de la mangue fraîche et séchée sur la libération *in vivo* des COVs

Les résultats obtenus en RATD/GC-MS sur l'impact de la texture des produits de mangue sur la libération des COVs en dégustation *in vivo* sont présentés dans l'article ci-contre “ *Impact of the fruit texture on the release and perception of aroma compounds during in vivo consumption using fresh and processed mango fruits* ”. Cet article en projet sera soumis dans le Journal Food Chemistry (soumission prévue pour octobre-novembre 2016).

1 **Impact of the fruit texture on the release and perception of aroma**
2 **compounds during *in vivo* consumption using fresh and processed**
3 **mango fruits**

4 Adeline Bonneau^{1,2}, Renaud Boulanger², Marc Lebrun², Isabelle Maraval², Jérémy Valette³,
5 Élisabeth Guichard⁴, Ziya Gunata^{1*}

6 ¹UMR Qualisud, University of Montpellier, Place E. Bataillon, 34095 Montpellier, Cedex 5,
7 France

8 ²UMR Qualisud, CIRAD, 73 Rue J.F. Breton, 34398 Montpellier, Cedex 5, France

9 ³UPR BioWooEB, CIRAD, 73 Rue J.F. Breton, 34398 Montpellier, Cedex 5, France

10 ⁴CSGA, CNRS, INRA, University of Bourgogne Franche-Comté, 17 Rue Sully, 21000 Dijon,
11 France

12 *Corresponding author. Tel.: +33 4 67149321; Fax: +33 4 67144292

13 E-mail address: zgunata@univ-montp2.fr

14 **Abstract**

15 From a homogenous mango fruit batch two fresh (fresh cubic pieces, fresh puree) and
16 two dried (dried cubic pieces, dried powder) products were prepared to obtain four samples
17 differing in the texture. The aromatic profiles were determined through the extraction of
18 organic volatile compounds (VOCs) by solvent assisted flavor evaporation (SAFE) technique
19 and gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS) analysis. VOCs released during
20 consumption were determined through the exhaled nostril breath of assessors. They were
21 trapped by a retronasal aroma-trapping device (RATD) mounted with Tenax and analyzed by
22 GC-MS. Twenty one terpenes and one ester were identified from the exhaled nosespace.
23 They were amongst major volatile compounds of mango samples. Ten of which were already
24 reported as potential key flavour compounds in mango. The *in vivo* release of aroma
25 compounds during consumption was affected by the matrix texture. The intact samples (fresh
26 and dried cubic pieces) released more aroma compounds than disintegrated samples (fresh
27 puree, dried powder). Sensory descriptive analysis was in good agreement with the data from
28 *in vivo* aroma release regarding fresh products in contrast to the dried products.

29 **Keywords**

30 Fresh and dried mangoes, texture, aroma compounds, *in vivo* aroma release, sensory analysis.

31 1. Introduction

32 Understanding impact factors on flavour perception is an important challenge for food-
33 processing industry to produce innovative and appreciated food products. Indeed, flavour is
34 the main factor affecting consumers' preferences.

35 Several studies reported that flavour perception and *in vivo* flavour release from food
36 was impacted by the nature and amount of aroma compounds and also by other matrix
37 components such as lipids (Delahunty, Piggott, *et al.*, 1996; Frank, Appelqvist, *et al.*, 2011),
38 polyphenols (Munoz-Gonzalez, Martin-Alvarez, *et al.*, 2014a), sugars, acids or alcohols
39 (Malundo, Shewfelt, Ware, *et al.*, 2001; Marsh, Friel, *et al.*, 2005; Muñoz-González,
40 Rodríguez-Bencomo, *et al.*, 2014) and pectins (Boland, Delahunty, *et al.*, 2006; Lubbers &
41 Guichard, 2003). On the other hand food texture constitutes a noticeable factor in flavour
42 perception and is taken into consideration in flavor formulation (Aprea, Biasioli, *et al.*, 2006;
43 Boland, Buhr, *et al.*, 2004; Frank, Appelqvist, *et al.*, 2011; Frank, Eyres, *et al.*, 2012).
44 Besides, the release of aroma compounds during eating is known to be affected by human
45 oral physiology and oral processing factors (saliva, chewing, breathing, oral cavity volume,
46 in-mouth temperature, tasting time, etc.), (Buettner & Beauchamp, 2010; Buettner &
47 Schieberle, 2000a, 2000b).

48 To understand the contribution of food texture, oral physiology and oral processing
49 factors on the release of aroma compounds during consumption, many studies were
50 performed on model food systems spiked with volatiles organic compounds (VOCs) in
51 *in vivo* and *in vitro* experiments (Feron, Ayed, *et al.*, 2014; Lubbers & Guichard, 2003;
52 Pointot, Arvisenet, *et al.*, 2013; Van Ruth & Roozen, 2000). However, very few studies used
53 real food matrices, as fruits, to study the aroma release during oral processing (Frank, Eyres,
54 *et al.*, 2012; Ting, Romano, *et al.*, 2015; Ting, Romano, *et al.*, 2016).

55 Two techniques were enounced in literature to study *in vivo* release of aroma compounds
56 during food consumption. On one hand, atmospheric-pressure-chemical ionization mass
57 spectrometry (API-MS) and proton-transfer-reaction mass-spectrometry (PTR-MS) are often
58 used. They enable real-time monitoring of VOCs release during consumption (Frank, Eyres,
59 *et al.*, 2012). The conventional instruments are equipped with quadrupole mass filter that
60 hinders discrimination of isobaric compounds, i.e. compounds with the same nominal mass
61 that may occur in foods. The coupling of PTR with time-of-flight (TOF) mass analyzer first
62 mentioned in 2004 could largely overcome this problem thanks to high mass resolution
63 (Zardin, Tyapkova, *et al.*, 2014). On the other hand, quite simple techniques, amenable to any

64 laboratory and based on the trapping of VOCs exhaled through the nasal cavity either on
65 SPME fibers (Pionnier, Sémon, *et al.*, 2005) or an adsorbant polymer like Tenax (Buettner &
66 Schieberle, 2000a; Muñoz-González, Rodríguez-Bencomo, *et al.*, 2014) were developed.
67 Further analysis of trapped VOCs by conventional GC-MS-EI leads to an easier identification
68 of the compounds. However these techniques do not deliver temporal profile of VOCs release
69 during consumption in contrast to the PTR or API based techniques.

70 The main objective of the study was to understand the impact of a fruit texture both in
71 the release of VOCs during oral processing and in the sensory perception. Mango fruit was
72 used because of its richness in aroma compounds (Munafa, Didzbalis, *et al.*, 2014; Pino,
73 Mesa, *et al.*, 2005). To evaluate the impact of texture, four mango samples were prepared
74 from a homogenous mango fruit batch leading to the different textures: two fresh (fresh
75 puree, fresh cubic pieces) and two dried mango samples (dried powder, dried cubic pieces).
76 Hence it was possible to carry out pairwise comparison of fresh puree and fresh cubic pieces
77 for aroma release *in vivo* since they were similar in VOCs composition. The same
78 comparison was made between dried powder and dried cubic pieces because of the similar
79 VOCs composition. VOCs from the exhaled nostril breath of assessors during consumption
80 of mango products were trapped by a retronasal aroma-trapping device (RATD) containing
81 Tenax and analyzed by GC-MS. A visual animation was followed by the assessors to
82 calibrate their chewing and breathing cycles and swallowing time to limit intra and inter-
83 individual variability. VOCs from the exhaled nostril breath were compared with those
84 identified in the organic extracts of mango samples obtained by a convenient technique,
85 solvent-assisted flavour evaporation (SAFE). Finally four mango samples were evaluated by
86 a trained sensory panel to discuss the relationship between VOCs detected in the exhaled
87 nostril breath of assessors and sensory attributes of the panel.

88 2. Materials and methods

89 2.1. Chemical reagents

90 Chemical solvents pentane, hexane, dichloromethane and methanol were purchased from
91 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). The internal standard α -cedrene used for extraction
92 SAFE and *in vivo* experiments was from Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA). The authentic
93 standards α -pinene, β -pinene, β -myrcene, δ -3-carene, camphene, α -phellandrene,
94 β -phellandrene, α -terpinene, γ -terpinene, limonene, p-cymene, β -ocimene, α -terpinolene,
95 α -gurjunene, α -caryophyllene, β -caryophyllene, 3-methylbutyl butanoate, heptanal,

96 3-hydroxy-2-butanone, nonanal, 2-phenylethanol, (*E,Z*)-2,6-nonadienal, toluene were from
97 Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA); hexanal, 2-methyl-1-butanol, 5-methylfurfural,
98 1-octanol, β -ionone were from Fluka Analytical (Steinheim, Germany); 2-pentanol,
99 3-methyl-1-butanol, (*Z*)-3-hexen-1-ol, furfural, γ -butyrolactone and γ -hexalactone were from
100 Interchim (Montluçon, France); δ -octalactone was from Fabster (Angerville, France);
101 o-xylene was from Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany) and 1-hexanol was from SBI Sanofi
102 (Grasse, France). Series of n-alkanes C₈ to C₂₀, were from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO,
103 USA).

104 2.2. Fruit sample materials

105 Fifty mango fruits (cv. Kent, Ivory Coast origin) were purchased at a local market in
106 Montpellier, France. Fruits at mature stage were selected on the basis of aspect, shape, size,
107 skin and firmness determined by Durofel indice (Bonneau, Boulanger, *et al.*, 2016).
108 Rectangular fruit slices from each mango were prepared (around 0.8 width \times 0.8 height \times 8
109 length in cm), gathered and divided into four equal batches following the same precautions
110 and protocol previously described (Bonneau, Boulanger, *et al.*, 2016).

111 To obtain the two fresh mango samples, one batch was mixed using a laboratory blender
112 at ambient temperature. Another batch was re-cut in cubic pieces with a knife (around
113 0.8 width \times 0.8 height \times 1 length in cm). The resulting fresh mango puree and fresh mango
114 cubic pieces were immediately frozen under liquid nitrogen and kept at -20 °C until
115 experiments.

116 To obtain the two other mango samples, the remaining two batches of rectangular mango
117 slices were dried in a pilot unit (dryer UTA, Villeneuve-sur-lot, France) operating at 60 °C
118 with a relative humidity of 40 % and constant air flow during 9 hours (Bonneau, Boulanger,
119 *et al.*, 2016). The resulting dried rectangular fruit slices were cut in cubic pieces with a knife
120 (around 0.6 width \times 0.3 height \times 1 length in cm). The half of dried pieces batch was ground to
121 a powder under liquid nitrogen with a ball crusher (Dangoumill 300, Prolabo, Fontenay-sous-
122 Bois, France). Resulting the dried mango powder and dried mango cubic pieces were stored
123 at -20 °C until experiments.

124 2.3. Physicochemical characterization

125 Mango samples were characterized for their total soluble solid (expressed in °Bx), pH,
126 titratable acidity (TA, expressed in % mEq citric acid), water activity (a_w) and dry matter
127 (DM, expressed in %) using materials and procedure described before (Bonneau, Boulanger,
128 *et al.*, 2016). All measurements were performed in four replicates.

129 2.4. Extraction of volatile compounds

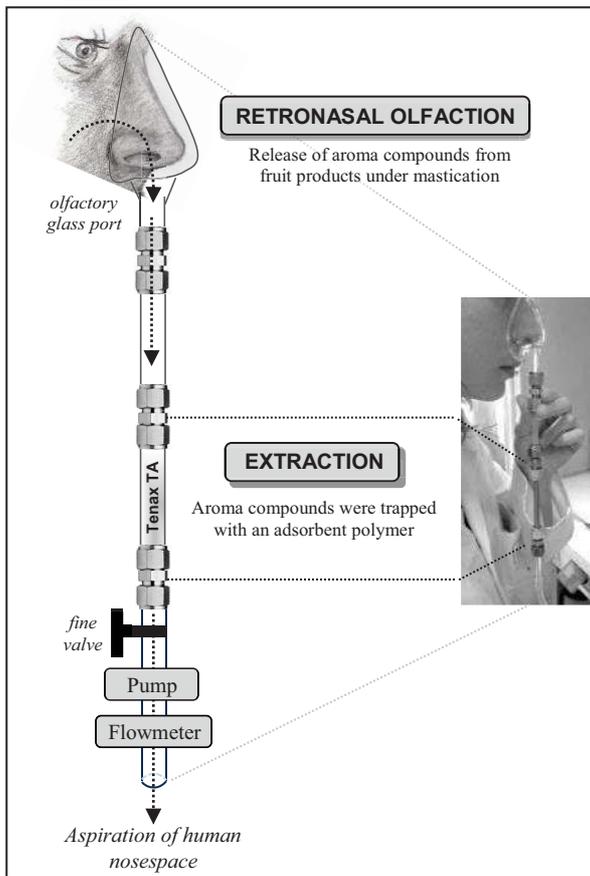
130 Volatile compounds of mango samples were extracted using the solvent-assisted flavour
131 evaporation (SAFE) technique (Bonneau, Boulanger, *et al.*, 2016). Briefly fifteen grams of
132 dried mango powder or sixty grams of fresh mango puree (equivalent weight in DM vs dried
133 mango), 100 mL of ultrapure water and 250 μ L of internal standard solution (α -cedrene at
134 120 μ g/mL in methanol) were placed in a 500 mL flask. To regulate the agitation and
135 distillation, a magnetic stir bar and PTFE boiling stones were added. The water bath
136 temperature was at 45 °C. The volatile fraction was isolated under high vacuum (10^{-3} mbar)
137 and collected in a flask cooled with liquid nitrogen. The distillation lasted for 90 min. when
138 high vacuum has been attained. The distillate was recovered, thawed at room temperature and
139 extracted first with 100 mL of solvent mixture (pentane : dichloromethane, 2:1, v/v) and then
140 with two other volumes of 50 mL of the same solvent. The organic extracts were combined,
141 dried over anhydrous sodium sulfate, concentrated using a Kuderna Danish column, and then
142 reduced to around 200 μ L under a gentle nitrogen stream. SAFE extraction was conducted in
143 triplicate for each mango sample.

144 2.5. *In vivo* aroma trapping

145 2.5.1. *In vivo* retronasal aroma trapping device (RATD)

146 The device used for *in vivo* experiments was adapted from previous studies (Buettner &
147 Schieberle, 2000a; Muñoz-González, Rodríguez-Bencomo, *et al.*, 2014) and included three
148 parts (Fig. 1) : (i) an olfactory glass port, where assessors placed their nose and exhaled
149 through the nasal cavity during consumption of mango products. Different ports were used
150 according to the nose shape of assessors; (ii) the olfactory port was connected to an adsorbent
151 polymer conditioned in stainless steel tube (200 mg Tenax TA, 60-80 mesh, N9307054,
152 Perkin Elmer, CT, USA); (iii) Tenax tube was connected to a vacuum pump at the end of the
153 device. To ensure a steady flow 500 mL/min during *in vivo* aroma trapping, a fine valve and a

154 diaphragm gas flowmeter (ADM 2000 flowmeter, Agilent Technologies, Wilmington, DE,
 155 USA) were used.



156
 157 **Fig. 1. RATD used for in vivo aroma trapping experiments**

158 *2.5.2. Panel of in vivo experiments*

159 Eight volunteers (3 women and 5 men) were recruited from our Qualisud Research Unit
 160 for *in vivo* experiments. They were non-smoking, experienced in sensory analysis and were
 161 instructed not to eat and drink (except neutral mineral water) 2 hours before experiments.

162 *2.5.3. Regulation of the breathing and chewing with visual animation*

163 A computer visual animation comprising a precise protocol to regulate chewing and nose
 164 breathing cycles during consumption was followed by the assessors in agreement with an
 165 earlier work ((Frank, Appelqvist, *et al.*, 2011; Frank, Eyres, *et al.*, 2012). It included two
 166 phases. A pre-swallow phase (32 sec.) consisted of 8 cycles of 2 sec. of inhalation coupled
 167 with 2 chewing strokes and 8 cycles of 2 sec. of exhalation coupled with 2 chewing strokes.
 168 Thereafter assessor swallowed sample at once (4 sec.). This was followed by post-swallow

169 phase (32 sec.) consisting of 8 cycles of 2 sec. of inhalation and 2 sec. of exhalation as above
170 but without chewing strokes. Hence one tasting counted 16 chewing and breathing cycles and
171 lasted for 68 sec. Similar inhalation and exhalation cycles and duration of pre- and
172 post-swallow phases were used in an earlier study related to the effect of food matrix on *in*
173 *vivo* aroma release (Frank, Eyres, *et al.*, 2012). Assessors were trained to the visual animation
174 with food matrices similar to mango samples of the present study, i.e. industrial mango puree,
175 canned mango cubic pieces, dried apricot cubic pieces, and dried banana powder. Several
176 training sessions (at least two) were performed until assessors felt at ease with animation and
177 tasting procedure.

178 2.5.4. *In vivo* RATD extraction and tasting protocol

179 The *in vivo* experiments were performed from 9:00 am to 12:00 am. For a given mango
180 product, 4 replicates were performed by assessors in a session lasted for 2 hours. 3 g dried
181 mango samples (powder or cubic pieces) or 10 g fresh mango samples (puree or cubic
182 pieces), that represent the same dry matter weight as fresh samples were consumed in each
183 tasting. The temperature of mango samples was between 10 and 12 °C.

184 Before each tasting, assessors rinsed their oral cavity according to a washing protocol:
185 4 replicates of alternative palate cleaning with 30 mL of mineral water to spit out and
186 4 replicates of 30 mL of mineral water to swallow. And, then, they respected a break time of
187 30 min. to reach unstimulated oral physiology status. Prior to the evaluation of the mango
188 sample, a blank of exhaled nostril breath of the assessor was done using RATD under above
189 visual animation protocol. VOCs trapped during 68 sec. by Tenax tube were then analyzed by
190 GC-MS. Afterwards, assessor consumed mango sample under the same conditions using
191 another Tenax tube, RATD device and the visual animation. Released volatile compounds
192 from mango samples during oral processing were trapped during 68 sec. and then analyzed
193 by GC-MS. During all *in vivo* aroma trapping, assessors maintained their lips closed during
194 consumption to favour the equilibrium of volatile compounds within the oral cavity (Buettner
195 & Schieberle, 2000a). Each session per mango product led to 4 Tenax tubes dealing with
196 blanks of assessor nosespace and 4 Tenax tubes corresponding to the VOCs released from
197 mango samples. A total of 128 Tenax tubes (8 assessors x 4 products x 4 replicates)
198 representing VOCs extracted during oral processing of mango samples together with
199 128 Tenax blank tubes of the assessors were subjected to GC-MS analysis.

200 To estimate the amount of VOCs in Tenax tube, 2 μ L of α -cedrene (13 ng/ μ L in hexane
201 was introduced with syringe onto the adsorbant polymer just before GC-MS analysis.

202 2.6. Volatile compounds analysis

203 2.6.1. GC-MS analysis

204 Aroma extracts of mango samples obtained by SAFE technique were analyzed with an
205 Agilent 6890 series GC (Agilent Technologies, Palo Alto, USA) equipped with a DB-WAX
206 column (30 m×0.25 mm, 0.25 µm phase film thickness, Agilent J&W GC column) coupled
207 to an Agilent 5973 mass spectrometer detector (Agilent Technologies, Palo Alto, USA).
208 One microliter of aroma extract was injected into on-column injector at 45°C. Initial oven
209 temperature was 45 °C (5 min.), then increased at 2 °C/min to 115 °C and then at 10 °C/min
210 to 250 °C. The final temperature column was maintained for 10 min. The mass spectrometer
211 was operated in electron impact (EI) ionization mode at 70 eV and at a scan range of 35 to
212 350 m/z. The carrier gas used was hydrogen placed at 1.5 mL/min at constant flow.

213 VOCs trapped by Tenax tubes in *in vivo* experiments were thermodesorbed with a
214 PerkinElmer Turbo Matrix 650 automatic thermal desorber (ATD PerkinElmer, CT, USA).
215 The ATD was programmed in two steps. First Tenax tube was heated to 280 °C for 15 min
216 with helium (100 mL/min). Desorbed VOCs were refocused on a Tenax TA trap maintained
217 at -30 °C. Trap was then quickly heated to 280 °C at 99 °C/s and maintained for 10 min.
218 Desorbed VOCs were introduced through a heated transfer line (deactivated column at
219 280 °C) to the GC injector (splitless mode) of an Agilent 6890 series GC (Agilent
220 Technologies, Palo Alto, CA, USA) equipped with a DB-1701 column (60 m x 0.25 mm,
221 0.25 µm phase film thickness, Agilent J&W GC column) coupled to an Agilent 5975 mass
222 spectrometer detector (Agilent Technologies, Palo Alto, USA). GC-MS analysis conditions
223 were the same as above except for carrier gas (helium at constant flow of 1.5 mL/min).
224 Before each *in vivo* extraction, Tenax tubes were conditioned at 300 °C for 30 min with
225 helium (100 mL/min).

226 2.6.2. Identification of volatile compounds

227 Volatile compounds were identified through their mass spectra (NIST version 2.0), their
228 retention indices (RIs) and the injection of the standards when available. The RIs of the
229 compounds were determined on DB-WAX and DB-1701 columns by linear interpolation
230 following the injection of n-alkanes solution (C₈-C₂₀).

231

232 2.6.3. Quantification of VOCs

233 VOCs extracted by SAFE technique were quantified as equivalent to α -cedrene.

234 For *in vivo* experiments, a calibration curve was established. Standard solutions of
235 α -pinene, β -myrcene, δ -3-carene, γ -terpinene, 3-methylbutyl butanoate, α -gurjunene,
236 camphene, β -pinene, α -phellandrene, α -terpinene, limonene, p-cymene, β -ocimene,
237 terpinolene, β -caryophyllene and α -caryophyllene were prepared in hexane to obtain the
238 concentrations at 1, 2, 3, 4, 5, 8, 10, 15, 20, 25 ng. μ L⁻¹. δ -3-carene was by far the major
239 volatile in Kent mango fruit. Consequently standard solutions of δ -3-carene in hexane were
240 prepared at final concentration of 35, 50, 100, 200, 250, 350 ng. μ L⁻¹. These solutions were
241 spiked with α -cedrene (served as internal standard) solution to yield a final concentration of
242 13 ng. μ L⁻¹. Note that for *in vivo* experiments with assessors Tenax tubes were loaded with the
243 same solution (two microliter) of α -cedrene just before GC-MS analysis. Two microliters of
244 each standard solution spiked with α -cedrene were loaded into Tenax tubes with a syringe.
245 Resulting Tenax tubes were analyzed by GC-MS as above. The analyses were conducted in
246 triplicate. Amount of volatile compounds were estimated from calibration curves ($R^2 > 0.99$).
247 When volatile compounds were not available, they were quantified as equivalent to
248 α -cedrene.

249 **2.7. Sensory analysis**

250 Ten trained assessors (6 women and 4 men, 7 of which participated to *in vivo*
251 experiments with RATD) were selected for the same criteria as *in vivo* experiments and their
252 experiences in sensory analysis and mango products evaluation.

253 Panel was trained with industrial mango products similar to the mango products of the
254 study (industrial mango puree, canned mango cubic pieces, dried mango slices transformed in
255 cubic pieces and powder) purchased at a local market in Montpellier, France.

256 Mango samples of the study and mango samples for training were defrosted in the
257 refrigerator overnight and kept in the refrigerator until experiments. They were placed in a
258 glass jar sealed with a cap and presented to the panel at temperature between 10-12 °C as in
259 *in vivo* experiments with RATD. Samples were randomly presented in a monadic mode with
260 a 3-digit anonymous code. The temperature and humidity of room were at 23 °C and 35 %
261 respectively.

262 Two training sessions were dedicated to familiarize the assessors with pre-defined odour,
 263 texture, taste and flavour attributes regarding fresh and dried mangoes (Ledeker, Chambers,
 264 *et al.*, 2012; Ledeker, Suwonsichon, *et al.*, 2014; Suwonsichon, Chambers Iv, *et al.*, 2012).
 265 A separate list of attributes was established for the fresh products and the dried products.
 266 A structured discrete scale from 0 (none) to 10 (high intensity) was used to rate sensory
 267 attributes (Table 1).

268 **Table 1. List of sensory attributes for mango products**

Sensory attributes	Definitions*		
	Fresh samples (puree, cubic pieces)	Dried samples (powder, cubic pieces)	
Odour	Intensity of overall odour	Intensity of odour with contribution of all odour notes	
	Intensity of overall fruity odour	Intensity of fruity odour with contribution of all odour notes associated with fruits	
	Intensity of overall cooked odour	-	Intensity of cooked odour with contribution of all odour notes associated with caramel notes, cooked, crystallized, dried, caramelized fruits notes
Texture	Firmness	The force required to chew and deform the sample	-
	Particle/Fiber amount	Amount of residues (fibers or particles) in the sample	-
	Viscosity	The force required to move and disperse sample in mouth	-
	Sticky	-	The force required to remove sample that sticks to the mouth or to teeth
Taste	Sweet	The fundamental taste sensation produced by compoundssuch as sucrose	
	Sour	The fundamental taste sensation produced by compounds such as citric acid	
Flavour	Intensity of overall aroma	Intensity of aroma with contribution of all aromatic notes	
	Mango identity	Contribution of sweet, fruity, green, turpentine aromatic notes (typical of mango flavor)	
	Fruity	A fruity aromatic note associated with all fruits except for mango	
	Spicy	A spicy aromatic note associated with cumin, clove, black pepper, licorice	
	Cooked	-	A cooked aromatic note associated with caramel, cooked, crystallized, dried, caramelized fruits
	Aroma persistence in the mouth	aroma perception in the mouth following swallowing	

269 *Definition of sensory attributes in reference to literature: Ledeker, Chambers, *et al.* (2012); Ledeker,
 270 Suwonsichon, *et al.* (2014); Malundo, Baldwill, *et al.* (1996); Malundo, Shewfelt & Ware (2001); Suwonsichon,
 271 Chambers Iv, *et al.* (2012); Valente, Ribeyre, *et al.* (2011); NF ISO 5492 (AFNOR, Association Française de
 272 Normalisation, Analyse sensorielle, Vocabulaire)

273 Each mango product was evaluated under red light in duplicates. Evaluation was
 274 performed in two morning sessions from 10:00 am to 12:00 as for in *in vivo* experiments with
 275 RATD. Assessors were free in their mastication, breathing and swallowing cycles, but they
 276 were instructed to rate flavour attributes during around 1 min. of consumption Between
 277 tastings, mineral water and neutral crackers were presented to the assessors.

278 **2.8. Statistical analysis**

279 All statistical tests were performed using XLSTAT software (version 2015.6.01, Addinsoft,
 280 Paris, France). Analyses of variance (ANOVA) were done using Tukey’s honestly significant
 281 difference (HSD) at a 95 % confidence level to pairwise compare fresh and dried samples on
 282 their aromatic and sensory profiles. Non-parametric tests of Mann-Witney at a 95%
 283 confidence level were used to pairwise compare the amount of volatile compounds released
 284 from fresh and dried samples in *in vivo* experiments.**3. Results and discussion**

285 **3.1. Main physicochemical analysis of mango samples**

286 Main physicochemical properties of mango samples, brix (°Bx), pH, titrable acidity
 287 (TA), water activity (a_w) and dry matter (DM) of fresh and dried mango were similar to the
 288 values reported in the literature (Pott, Neidhart, *et al.*, 2005; Tharanathan, Yashoda, *et al.*,
 289 2006). A_w was less than 0.6 that is required for microbiological stability of dried fruits (Pott,
 290 Neidhart, *et al.*, 2005).

291 **Table 2. Physicochemical properties of mango products**

Mango products	°Bx ^a	pH ^b	TA ^c	a_w ^d	DM ^e
Fresh samples (puree, cubic pieces)	18.6 ± 0.2	4.0 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.9802 ± 0.0042	20.6 ± 0.2
Dried samples (powder, cubic pieces)	81.3 ± 1.4	4.1 ± 0.1	2.8 ± 0.2	0.5594 ± 0.0079	90.1 ± 1.2

292 ^a Total soluble solids (°Bx) ± 0.1°Bx

293 ^b pH ± 0.1

294 ^c Titratable acidity (TA) was expressed in % mEq of citric acid.

295 ^d Water activity (a_w) was expressed unitless ± 0.0001 at 25°C

296 ^e Dry matter (DM) was expressed in %

297 **3.2. Aromatic profile of mango samples**

298 To determine as much as precisely whole aroma composition of mango samples, SAFE
299 technique was chosen. This technique enables to obtain an aroma extract close to the aroma
300 composition of the targeted product (Munafò, Didzbalis, *et al.*, 2014). Fifty volatile
301 compounds were identified in mango samples (Table 3). In agreement with earlier studies
302 (Bonneau, Boulanger, *et al.*, 2016; Pino & Mesa, 2006), the aromatic profile of fresh and
303 dried mango samples from cv. Kent were rich in terpene compounds representing 92.8 % and
304 84.1% of VOCs, respectively. δ -3-carene was the predominant terpene following by
305 α -terpinolene, β -myrcene, limonene and α -pinene. Other chemical classes were present in all
306 products like nonterpene hydrocarbons, alcohols, lactones and aldehydes.

307 The difference in aromatic composition between fresh and dried samples was due to the
308 losses and generation of compounds under the drying process (Bonneau, Boulanger, *et al.*,
309 2016). Significant differences were observed for many volatile compounds levels between
310 fresh and dried mango. Amongst them, monoterpenes, sesquiterpenes, aliphatic alcohols
311 (3-pentanol, 1-penten-3-ol, etc.), some aldehydes ((*E*)-2-nonenal and (*E,Z*)-2,6-nonadienal)
312 and lactones (γ -hexalactone, δ - and γ -octalactone) were present at higher levels in fresh
313 mango than dried mango. In contrast dried mango was richer in 3-methyl-1-butanol, hexanal,
314 γ -butyrolactone than fresh mango. In addition, new compounds appeared under drying and
315 were specific of dried samples (2-phenylethanol, 3-methylbutyl butanoate, furan derivatives).

316 Over 50 VOCs identified 20 could be considered as potential aroma contributors in
317 mango samples. Their odour activity value (OAV) calculated through odor threshold of the
318 compounds from the literature was found to be higher than 1. Amongst them α -pinene,
319 δ -3-carene, α -phellandrene, β -myrcene, limonene, β -ocimene, p-cymene, α -terpinolene,
320 β -caryophyllene, 1-penten-3-ol, hexanal, nonanal, δ -octalactone and γ -octalactone were
321 present both in fresh and dried mango samples; while camphene, (*E*)-2-nonenal and
322 (*E,Z*)-2,6-nonadienal only on fresh mango; heptanal, 3-methylbutyl butanoate and
323 γ -butyrolactone only in dried mango samples. Moreover aforementioned 20 compounds were
324 reported to be key flavor compounds in mango according to GC-O analysis (Bonneau,
325 Boulanger, *et al.*, 2016; Munafò, Didzbalis, *et al.*, 2014; Pino, 2012; Pino & Mesa, 2006),
326 (Table 3).

327 Table 3. Aroma compounds in fresh and dried mango samples

Compounds	RI DB-WAX ^a		RI DB-1701 ^a		ID ^b	Relative quantities (µg.kg ⁻¹ DM) ^c		Significance ^d
	Exp	Lit	Exp	Lit		Fresh samples	Dried samples	
	Monoterpene hydrocarbons							
α-pinene ^{♦†}	1027	1032	946	943	A	429.1	160.2	**
α-fenchene [♦]	1056	1054	965	n.f.	B	12.0	3.3	***
camphene ^{♦†}	1069	1075	967	970	A	3.3	t	**
β-pinene [♦]	1108	1113	999	999	A	25.7	12.0	**
δ-3-carene ^{♦†}	1147	1148	1034	1024	A	21149.6	7583.1	**
α-phellandrene ^{♦†}	1159	1166	1034	1036	A	121.7	31.1	**
β-myrcene ^{♦†}	1163	1150	1021	1016	A	596.8	153.0	**
α-terpinene [♦]	1174	1178	1045	1036	A	56.7	18.4	**
sylvestrene [♦]	1192	1177	1051	n.f.	B	30.4	10.4	**
limonene ^{♦†}	1194	1188	1055	1065	A	529.9	162.6	**
β-phellandrene [♦]	1202	1209	1062	1059	A	193.9	49.1	**
γ-terpinene [♦]	1234	1238	1096	1090	A	12.5	4.6	**
β-ocimene ^{♦†}	1243	1242	1083	1075	A	9.8	t	**
p-cymene ^{♦†}	1252	1257	1072	1073	A	51.8	12.6	**
unknown monoterpene ^{§♦}	1260	-	1114	-	C	74.0	21.4	**
α-terpinolene ^{♦†}	1265	1275	1117	1113	A	845.3	253.7	**
p-cymenene [♦]	1433	1426	1153	n.f.	B	5.5	3.1	**
Total						24148.1	8478.8	
Sesquiterpene hydrocarbons								
α-gurjunene [♦]	1507	1529	1448	-	A	17.7	17.1	n.s.
β-caryophyllene ^{♦†}	1579	1570	1480	1471	A	90.7	75.5	n.s.
α-caryophyllene [♦]	1639	1640	1522	1514	A	126.6	93.6	*
Total						235.0	186.2	
Norisoprenoid								
β-ionone	1900	1912	1621	1622	A	t	t	n.s.
Nonterpene hydrocarbons								
toluene	1037	1042	816	817	A	779.0	564.0	n.s.
p-xylene	1120	1127	911	919	B	11.2	7.0	*
m-xylene	1129	1138	947	n.f.	B	22.6	15.0	**
o-xylene	1172	1182	919	919	A	13.3	7.9	*
Total						826.1	593.9	
Alcohols								
3-pentanol	1112	1110	796	n.f.	B	167.0	125.1	*
2-pentanol	1123	1117	799	806	A	438.0	314.5	*
1-penten-3-ol [†]	1158	1157	-	784	B	30.9	11.9	*
3-methyl-1-butanol [§] & 2-methyl-1-butanol [§]	1208	1206	858	863	A A	t	86.7	***
1-pentanol	1246	1244	901	891	B	26.2	14.6	**
2-penten-1-ol (isomer)	1314	1316	878	888	B	30.9	11.3	*
1-hexanol	1369	1354	990	985	A	19.9	8.5	**
(Z)-3-hexen-1-ol	1404	1401	971	970	A	117.9	3.4	**
1-octanol	1569	1557	1050	n.f.	A	7.0	4.3	n.s.
2-phenylethanol	1876	1893	1654	1645	A	n.d.	4.8	**
Total						837.7	585.0	
Aldehydes								
hexanal [†]	1087	1075	872	887	A	t	5.3	*
heptanal [†]	1190	1183	974	982	A	n.d.	15.9	*
nonanal [†]	1409	1392	1194	1189	A	22.5	19.3	n.s.
(E)-2-nonenal [†]	1517	1519	1283	1282	B	14.2	t	***

(<i>E,Z</i>)-2,6-nonadienal [†]	1573	1597	1284	1269	A	68.0	t	**
Total						104.7	40.5	
Ketone								
3-hydroxy-2-butanone	1258	1272	845	n.f.	A	t	89.0	**
Ester								
3-methylbutyl butanoate ^{♦†}	1258	1261	1119	n.f.	A	n.d.	52.2	***
Furans								
2-pentylfuran	1226	1231	1034	1030	B	n.d.	t	n.s.
2-furfural	1450	1456	970	970	A	n.d.	21.6	***
5-methylfurfural	1550	1560	1109	1116	A	n.d.	t	n.s.
Total						n.d.	21.6	
Lactones								
γ-butyrolactone [†]	1591	1619	1128	1128	A	28.8	238.4	***
γ-hexalactone	1653	1694	1272	n.f.	A	60.0	5.9	**
δ-octalactone [†]	sup	1964	1661	n.f.	A	17.2	8.1	**
γ-octalactone [†]	1868	1883	1486	1475	B	12.5	t	**
Total						118.5	252.5	
Total amounts						26270.1	10299.6	
328	^a Retention index of aroma compounds (RI) from databases (Flavornet; Pherobase; The LRI and Odour							
329	Database)							
330	^b ID identification (A) mass spectra database from NIST (NIST, 2011), RI and injection of standard (positive							
331	identification), (B) mass spectrum, RI (tentative identification), (C) only mass spectrum.							
332	^c Quantification of aroma compounds as equivalent to internal standard (<i>α</i> -cedrene) and expressed in µg per kg							
333	of dry matter (µg.kg ⁻¹ DM) in fresh and dried mango samples.							
334	^d Significance, analysis of variance (ANOVA) with the honestly significant difference (HSD) in a Tukey test at							
335	different significance levels (XLSTAT software): (n.s.) no significant difference between dried and fresh							
336	samples ($\alpha > 5\%$); (*) significant difference with $\alpha < 5\%$; (**) significant difference with $\alpha < 1\%$; (***)							
337	significant difference with $\alpha < 0.1\%$.							
338	Symbols: (\$) coelution of aroma compound; (♦) compound was also observed in <i>in vivo</i> experiments; (†)							
339	compound was reported as key aroma compound in mango flavour (Bonneau, Boulanger, <i>et al.</i> , 2016; Munafo,							
340	Didzbalis, <i>et al.</i> , 2014; Pino, 2012; Pino & Mesa, 2006); (§) unknown monoterpene compound with specific							
341	ions (m/z 91/93/105/121/136); (t) aroma compound in trace amount ($t < 3.0$ µg/kg DM); (n.d.) aroma							
342	compound was not detected; (n.f.) data was not available in the literature; (-) data is missing.							

343 3.3. Impact of fruit texture on the *in vivo* aroma release during consumption

344 During consumption of a food besides food matrix, oral processing conditions, i.e saliva
345 flow, saliva composition, breathing and chewing cycles and their duration are known to affect
346 volatile release (Boland, Delahunty, *et al.*, 2006; Buettner & Beauchamp, 2010; Frank,
347 Appelqvist, *et al.*, 2011; Munoz-Gonzalez, Martin-Alvarez, *et al.*, 2014a). Therefore a visual
348 animation monitoring breathing and chewing cycles was followed by the assessors to reduce
349 intra and inter-individual variability in aroma release. This approach has already been used in
350 previous studies on aroma release during oral processing of the foods (Frank, Appelqvist, *et*
351 *al.*, 2011; Frank, Eyres, *et al.*, 2012). Since *in vivo* nosespace technique applied here was not
352 able to monitor volatile release in real time as for in PTR-MS technique, VOCs from exhaled
353 breath of assessors both during the pre-swallow phase (32 sec.) and the post-swallow phase
354 (32 sec.) were trapped onto Tenax and identified further by GC-MS analysis. Preliminary
355 work analyzing separately VOCs from pre-swallow and post swallow-phases did not show
356 differences in aroma release in both phases whatever mango samples but were assessor
357 dependant.

358 An unstimulated oral physiology status was preferred before each tasting to minimize
359 variability in saliva flow and composition between replicates. In fact, a successive tastings
360 without break-time induced a stimulated oral physiology status that causes variations in saliva
361 flow and composition (Drago, Panouillé, *et al.*, 2011; Engelen, de Wijk, *et al.*, 2003). In
362 addition, prior to each tasting a blank of exhaled nostril breath of the assessors was performed
363 under the same protocol as in *in vivo* aroma release. Indeed, several volatile compounds
364 (acetone, ethanol, terpenes, etc.) were found in the exhaled nostril breath (Miekisch,
365 Schubert, *et al.*, 2004; Sanchez & Sacks, 2006). Many volatile compounds were detected in
366 the blank tests of assessors and some of them (α -pinene, β -pinene, limonene) were present in
367 the *in-vivo* analysis of mango samples. Therefore their amount was subtracted from that
368 obtained *with* mango samples.

369 The data mentioned in Table 4 are the average amount of each compound released by the
370 8 assessors in 4 replicates for each mango product. A total of 21 volatile compounds were
371 observed in the *in vivo* experiments. They were amongst the main volatile compounds of the
372 fresh and dried mango samples. 17 monoterpenes and 3 sesquiterpenes were detected in all
373 samples, whereas 3-methylbutanoate only in dried samples. Furthermore among the
374 20 compounds reported as potentially key aroma compounds in mango products on the basis
375 of OAV and GC-O data (Bonneau, Boulanger, *et al.*, 2016; Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2014;

376 Pino, 2012; Pino & Mesa, 2006), only 11 were detected in the *in vivo* experiments i.e. α -
377 pinene, camphene, δ -3-carene, α -phellandrene, β -myrcene, limonene, β -ocimene, p-cymene,
378 α -terpinolene, β -caryophyllene and 3-methylbutyl butanoate.

379 With respect to the fresh samples, $84\mu\text{g.kg}^{-1}$ DM VOCs was released from fresh cubic
380 pieces, while $27\mu\text{g.kg}^{-1}$ (DM) from fresh puree. ANOVA has shown that 17 terpenes were
381 significantly released at higher levels from fresh cubic pieces than fresh puree.

382 Similarly in the case of the dried samples, higher levels of VOCs were emitted from
383 dried cubic pieces than dried powder, $56\mu\text{g.kg}^{-1}$ DM against $20\mu\text{g.kg}^{-1}$ DM. Moreover,
384 11 terpenes were significantly released at higher levels from dried cubic pieces than dried
385 powder.

386 From the above results, it can be concluded that the intact fruit samples (fresh and dried
387 cubic pieces) release more aroma compounds than disintegrated samples (fresh puree, dried
388 powder). This may be attributed to the increasing surface area of intact samples during oral
389 breakdown while surface area of fresh puree and dried powder may have been reduced during
390 mastication caused by the occurrence of coalescence. To compare our data with that of the
391 literature where PTR-MS technique was applied on several real foods (Frank, Eyres, *et al.*,
392 2012), the area under curve (AUC) of the VOCs in PTR-MS analysis from pre-sallow and
393 post-sallow phases was taken into consideration. Note that these authors have imposed a
394 controlled protocol during *in vivo* tasting similar to that used in the present work. The same
395 tendencies were observed. VOCs released during pre-swallow (30 sec.) and post-swallow
396 (30 sec.) phases showed that in general the solid matrix (pieces of orange, carrot, chocolate
397 and peanut) release more aroma compounds than semi-solid matrix (orange jelly and
398 chocolate dessert) and the latter more than liquid matrix (orange juice, carrot juice, chocolate
399 milk and peanut butter). These data are supported by a study on a pectin or gelatin gels added
400 with strawberry flavour compounds (Boland, Delahunty, *et al.*, 2006). VOCs release based on
401 AUC values during consumption monitored by PTR-MS showed higher volatile release when
402 the rigidity of the model fruit was increased by the addition of pectin or gelatin. In a recent
403 studies firm apple cultivars *in vivo* PTR-MS analysis were found to release more VOCs based
404 on AUC values than soft cultivars (Ting, Romano, *et al.*, 2015; Ting, Romano, *et al.*, 2016).
405 However this data could not be compared with the present data since aroma composition of
406 apple cultivars was different.

407 **Table 4. Aroma compounds trapped from the exhaled nostril of assessors in in vivo experiments**
 408 **(8 assessors, 4 tastings)**

Compound	Amount of aroma compounds released (ng.kg ⁻¹ DM) ^a					
	Fresh mango products			Dried mango products		
	Fresh puree	Fresh cubic pieces	Significance ^b	Dried powder	Dried cubic pieces	Significance ^b
Monoterpene hydrocarbons						
α-pinene [†]	492	1980	***	291	1286	***
camphene [†]	16	39	n.s.	10	39	***
α-fenchene [§]	43	148	**	23	106	***
β-pinene	75	121	n.s.	47	96	n.s.
β-myrcene [†]	842	4322	***	579	2765	*
δ-3-carene ^{◇†}	23116	65731	***	17240	43070	*
& α-phellandrene ^{◇†}						
α-terpinene	42	268	**	38	207	**
limonene [†]	750	3028	**	564	1971	*
sylvestrene [§]	105	590	***	75	398	n.s.
β-phellandrene [§]	229	1149	***	174	666	*
p-cymene [†]	259	810	*	133	681	**
β-ocimene [†]	93	187	n.s.	39	143	**
γ-terpinene	49	168	**	59	109	n.s.
unknown monoterpene [§]	85	493	***	95	334	n.s.
α-terpinolene [†]	548	3453	***	539	2143	n.s.
p-cymenene	191	817	***	189	657	n.s.
Sesquiterpene hydrocarbons						
α-gurjunene	t	63	***	35	78	n.s.
β-caryophyllene [†]	41	242	***	91	302	n.s.
α-caryophyllene	11	121	***	24	136	**
Ester						
3-methylbutyl butanoate [†]	-	-	-	293	389	n.s.
Total amounts	26986	83730	***	20540	55577	*

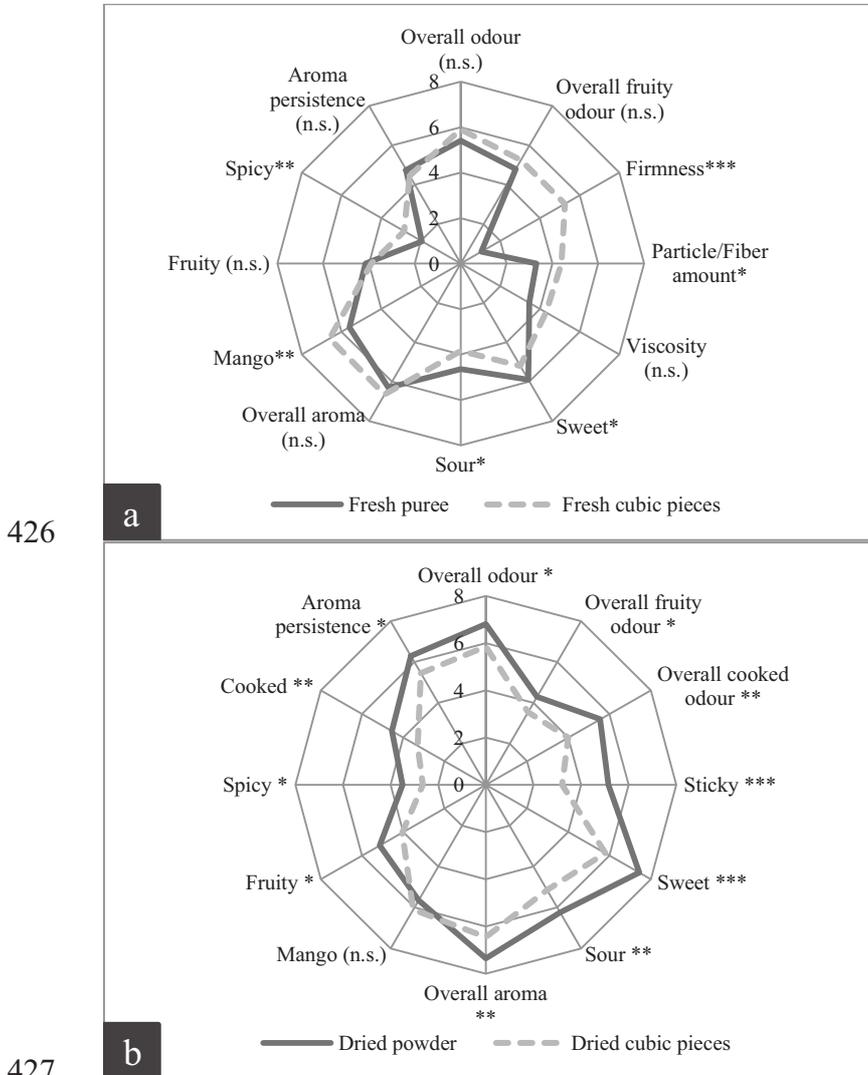
409 ^aAverage amount of aroma compounds released in *in vivo* experiments during consumption of mango samples
 410 by 8 assessors in 4 replicates. Quantity expressed in ng per kg of dry matter (ng.kg⁻¹ DM) in fresh and dried
 411 mango samples.

412 ^bSignificance, non-parametric tests of Mann-Whitney were used to compare mango products at different
 413 significance levels (XLSTAT software): (n.s.) no significant difference between mango products ($\alpha > 5\%$); (*)
 414 significant difference with $\alpha < 5\%$; (**) significant difference with $\alpha < 1\%$; (***) significant difference with
 415 $\alpha < 0.1\%$.

416 Symbols: (§) quantification of some aroma compounds as equivalent to internal standard (α -cedrene) and
 417 expressed in ng per kg of dry matter (ng.kg⁻¹ DM) in fresh and dried mango samples; (◇) compound δ -3-carene
 418 was coeluted with α -phellandrene that represented less than 1% of signal response of δ -3-carene; (†) compound
 419 was reported as key aroma compound in mango flavour (Bonneau, Boulanger, *et al.*, 2016; Munafò, Didzbalis,
 420 *et al.*, 2014; Pino, 2012; Pino & Mesa, 2006); (§) unknown monoterpene compound with specific ions
 421 (m/z 91/93/105/121/136); (t) aroma compound was detected in trace quantity (t < 10 ng.kg⁻¹ DM).

422 **3.4. Impact of fruit texture on the sensory perception**

423 A total of twelve selected sensory attributes were chosen to describe sensory profile of
 424 the fresh and dried mango samples. The sensory panel (n=10) showed a good repeatability
 425 and homogeneous scores between subjects.



428 **Fig. 2. Sensory analysis of mango samples: (a) fresh puree and fresh cubic pieces; (b) dried powder**
 429 **and dried cubic pieces.** ANOVA with Tukey's HSD : no significance (n.s.); significance $*(\alpha < 5\%)$;
 430 $**(\alpha < 1\%)$; $***(\alpha < 0.1\%)$

431 For the fresh samples, 6 attributes in relation with texture, taste and flavour were
 432 significantly different between the 2 fresh products (Fig. 2a). On the contrary odour attributes
 433 had no significant differences between both products. Fresh cubic pieces were rated more
 434 firm and with more particles and fibers than fresh puree. Fresh puree was rated more *sweet*
 435 and *sour* than fresh cubic pieces that may be attributed to higher availability of sweet and
 436 sour components for the tongue. *Mango* and *spicy* flavour attributes were perceived more in

437 fresh cubic pieces than in fresh puree in agreement with a previous study on the comparison
438 of fresh mango pieces (cv. Kent) and mango puree by a sensory panel (Ledeker, Chambers, *et*
439 *al.*, 2012). Interestingly a relationship between flavor perception of the sensory panel and the
440 *in vivo* aroma release becomes possible. In fact VOCs released in *in vivo* experiments
441 imparting mango-like (α -pinene, δ -3-carene, α -phellandrene, β -myrcene, limonene,
442 β -ocimene, p-cymene, α -terpinolene) and spicy notes (α -phellandrene, p-cymene,
443 β -caryophyllene), were detected at higher levels in fresh cubic pieces, i.e. intact fruits than
444 fresh puree.

445 Regarding dried samples, all attributes were significantly rated higher in dried powder
446 than in dried cubic pieces except for *mango* flavour attribute that was perceived similarly in
447 both products (Fig. 2b). Dried powder developed more *fruity*, *spicy* and *cooked* notes than
448 dried cubic pieces. This is in contradiction with *in vivo* experiments results where dried cubic
449 pieces released more VOCs than dried powder. A plausible explanation of this difference
450 may be the fact that assessors were free with regard to the breathing, chewing cycles and
451 swallowing during sensory evaluation. Consequently the chewing of dried mango pieces
452 might have taken fewer or longer time than *in vivo* aroma release experiments.

453 Taste attributes, *sweet* and *sour* were rated higher in the dried powder than in the dried
454 cubic pieces. Thus, the taste perception (sweetness and sourness) was clearly linked to the
455 matrix structure since it was higher in the disintegrated mango samples (fresh puree, dried
456 powder) compared to the intact mango samples (fresh and dried cubic pieces). In this regard,
457 it has been shown that thickness increase in pectin gels was inversely related to sweet
458 perception (Boland, Delahunty, *et al.*, 2006). In addition, flavor perception could also be
459 impacted by food components, sugars, organic acids, macromolecules (polysaccharides,
460 lipids, polyphenols, etc.), (Guichard, 2002; Tournier, Sulmont-Rossé, *et al.*, 2007).
461 Taste components are known to be flavour enhancers. For example, sugar level was found to
462 correlate with sweet and peachy flavour attributes in fresh mango (Malundo, Shewfelt, Ware,
463 *et al.*, 2001). Consequently higher flavor perception in dried mango powder than in the dried
464 cubic pieces was presumably due to a better accessibility for the palate of the sugar in the
465 powdered mango.

466 **4. Conclusion**

467 The current study highlights the impact of fruit texture on the release and perception of
468 aroma compounds during *in vivo* consumption. Although the experimental methodology

469 based on RATD is not able to monitor VOCs release in real time *in vivo* experiments, it
 470 enabled to draw general conclusions close to those obtained with PTR-MS on real foods. The
 471 methodology employed is quite simple and allows moreover identifying the VOCS at low
 472 levels because of several seconds trapping during oral processing.

473 Further studies would help in the understanding the effect of various factors (sugars,
 474 pectins, saliva, etc.) on the release of flavor compounds and flavor perception using a model
 475 matrix varying in the texture and added with potential key flavor compounds from mango.

476 Acknowledgements

477 Christophe Bugaud from Qualisud Research Unit and Xavier Bry from Montpellier
 478 University are gratefully thanked for their support in statistical analysis and all the assessors
 479 from Qualisud Research Unit implicated in the *in vivo* experiments.

480 References

- 481 Aprea, E., Biasioli, F., Gasperi, F., Märk, T. D., & van Ruth, S. (2006). *In vivo*
 482 monitoring of strawberry flavour release from model custards: effect of texture and oral
 483 processing. *Flavour and Fragrance Journal*, 21, 53-58.
- 484 Boland, A. B., Buhr, K., Giannouli, P., & van Ruth, S. M. (2004). Influence of gelatin,
 485 starch, pectin and artificial saliva on the release of 11 flavour compounds from model gel
 486 systems. *Food Chemistry*, 86, 401-411.
- 487 Boland, A. B., Delahunty, C. M., & van Ruth, S. M. (2006). Influence of the texture of
 488 gelatin gels and pectin gels on strawberry flavour release and perception. *Food Chemistry*,
 489 96, 452-460.
- 490 Bonneau, A., Boulanger, R., Lebrun, M., Maraval, I., & Gunata, Z. (2016). Aroma
 491 compounds in fresh and dried mango fruit (*Mangifera indica* L. cv. Kent): impact of drying
 492 on volatile composition. *International Journal of Food Science and Technology*, 51, 789-800.
- 493 Buettner, A., & Beauchamp, J. (2010). Chemical input – Sensory output: Diverse modes
 494 of physiology–flavour interaction. *Food Quality and Preference*, 21, 915-924.
- 495 Buettner, A., & Schieberle, P. (2000a). Exhaled Odorant Measurement (EXOM) — A
 496 New Approach to Quantify the Degree of In-mouth Release of Food Aroma Compounds.
 497 *LWT - Food Science and Technology*, 33, 553-559.
- 498 Buettner, A., & Schieberle, P. (2000b). Influence of mastication on the concentrations of
 499 aroma volatiles - some aspects of flavour release and flavour perception. *Food Chemistry*, 71,
 500 347-354.
- 501 Delahunty, C. M., Piggott, J. R., Conner, J. M., & Paterson, A. (1996). Comparison of
 502 dynamic flavour release from hard cheeses and analysis of headspace volatiles from the
 503 mouth with flavour perception during consumption. *Journal of the Science of Food and*
 504 *Agriculture*, 71, 273-281.
- 505 Drago, S. R., Panouillé, M., Saint-Eve, A., Neyraud, E., Feron, G., & Souchon, I. (2011).
 506 Relationships between saliva and food bolus properties from model dairy products. *Food*
 507 *Hydrocolloids*, 25, 659-667.

- 508 Engelen, L., de Wijk, R. A., Prinz, J. F., van der Bilt, A., & Bosman, F. (2003). The
 509 relation between saliva flow after different stimulations and the perception of flavor and
 510 texture attributes in custard desserts. *Physiology & Behavior*, 78, 165-169.
- 511 Feron, G., Ayed, C., Qannari, E. M., Courcoux, P., Laboure, H., & Guichard, E. (2014).
 512 Understanding aroma release from model cheeses by a statistical multiblock approach on oral
 513 processing. *PLoS one*, 9, e93113.
- 514 Flavornet. (2004). <http://www.flavornet.org/flavornet.html>. Accessed June 2016.
- 515 Frank, D., Appelqvist, I., Piyasiri, U., Wooster, T. J., & Delahunty, C. (2011). Proton
 516 transfer reaction mass spectrometry and time intensity perceptual measurement of flavor
 517 release from lipid emulsions using trained human subjects. *Journal of Agricultural and Food
 518 Chemistry*, 59, 4891-4903.
- 519 Frank, D., Eyres, G. T., Piyasiri, U., & Delahunty, C. M. (2012). Effect of food matrix
 520 structure and composition on aroma release during oral processing using in vivo monitoring.
 521 *Flavour and Fragrance Journal*, 27, 433-444.
- 522 Guichard, E. (2002). Interactions between flavor compounds and food ingredients and
 523 their influence on flavor perception. *Food Reviews International*, 18, 49-70.
- 524 Ledeker, C. N., Chambers, D. H., Chambers, E. t., & Adhikari, K. (2012). Changes in the
 525 sensory characteristics of mango cultivars during the production of mango puree and sorbet.
 526 *Journal of Food Science*, 77, S348-355.
- 527 Ledeker, C. N., Suwonsichon, S., Chambers, D. H., & Adhikari, K. (2014). Comparison
 528 of sensory attributes in fresh mangoes and heat-treated mango purées prepared from Thai
 529 cultivars. *LWT - Food Science and Technology*, 56, 138-144.
- 530 Lubbers, S., & Guichard, E. (2003). The effects of sugars and pectin on flavour release
 531 from a fruit pastille model system. *Food Chemistry*, 81, 269-273.
- 532 Malundo, T., Baldwill, E., Ware, G., & Shewfelt, R. (1996). Volatile composition and
 533 interaction influence flavor properties of mango (*Mangifera indica* L.). In *proceedings-
 534 florida state horticultural society*, 109, 264-268.
- 535 Malundo, T., Shewfelt, R., & Ware, G. (2001). An alternative method for relating
 536 consumer and descriptive data used to identify critical flavor properties of mango (*Mangifera
 537 Indica* L.) 1. *Journal of sensory studies*, 16, 199-214.
- 538 Malundo, T. M. M., Shewfelt, R. L., Ware, G. O., & Baldwin, E. A. (2001). Sugars and
 539 Acids Influence Flavor Properties of Mango (*Mangifera indica*). *Journal of the American
 540 Society for Horticultural Science*, 126, 115-121.
- 541 Marsh, K. B., Friel, E. N., Gunson, A., Lund, C., & MacRae, E. (2005). Perception of
 542 flavour in standardised fruit pulps with additions of acids or sugars. *Food Quality and
 543 Preference*, 17, 376-386.
- 544 Miekisch, W., Schubert, J. K., & Noeldge-Schomburg, G. F. E. (2004). Diagnostic
 545 potential of breath analysis—focus on volatile organic compounds. *Clinica Chimica Acta*,
 546 347, 25-39.
- 547 Munafò Jr., J. P., Didzbalis, J., Schnell, R. J., Schieberle, P., & Steinhaus, M. (2014).
 548 Characterization of the major aroma-active compounds in mango (*Mangifera indica* L.)
 549 cultivars Haden, White Alfonso, Praya Sowoy, Royal Special, and Malindi by application of
 550 a comparative aroma extract dilution analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,
 551 62, 4544-4551.
- 552 Muñoz-Gonzalez, C., Martín-Alvarez, P. J., Moreno-Arribas, M. V., & Pozo-Bayon, M.
 553 A. (2014). Impact of the nonvolatile wine matrix composition on the in vivo aroma release
 554 from wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 66-73.

- 555 Muñoz-González, C., Rodríguez-Bencomo, J. J., Moreno-Arribas, M. V., & Pozo-Bayón,
556 M. Á. (2014). Feasibility and application of a retronasal aroma-trapping device to study in
557 vivo aroma release during the consumption of model wine-derived beverages. *Food Science*
558 *& Nutrition*, 2, 361-370.
- 559 NIST, National Institute of Standards and Technology. (2011). <http://webbook.nist.gov/>.
560 Accessed June 2016.
- 561 Pherobase. (2014). [http://www.pherobase.com/database/compound/compounds-](http://www.pherobase.com/database/compound/compounds-index.php)
562 [index.php](http://www.pherobase.com/database/compound/compounds-index.php). Accessed June 2016.
- 563 Pino, J. A. (2012). Odour-active compounds in mango (*Mangifera indica* L. cv.
564 Corazón). *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 1944-1950.
- 565 Pino, J. A., & Mesa, J. (2006). Contribution of volatile compounds to mango (*Mangifera*
566 *indica* L.) aroma. *Flavour and Fragrance Journal*, 21, 207-213.
- 567 Pino, J. A., Mesa, J., Munoz, Y., Marti, M. P., & Marbot, R. (2005). Volatile
568 components from mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *Journal of Agricultural and Food*
569 *Chemistry*, 53, 2213-2223.
- 570 Pionnier, E., Sémon, E., Chabanet, C., & Salles, C. (2005). Évaluation de la technique de
571 microextraction sur phase solide (SPME) pour l'analyse de l'air humain exhalé pendant la
572 consommation d'aliments. *Sciences des Aliments*, 25, 193-206.
- 573 Poinot, P., Arvisenet, G., Ledauphin, J., Gaillard, J.-L., & Prost, C. (2013). How can
574 aroma-related cross-modal interactions be analysed? A review of current methodologies.
575 *Food Quality and Preference*, 28, 304-316.
- 576 Pott, I., Neidhart, S., Mühlbauer, W., & Carle, R. (2005). Quality improvement of non-
577 sulphited mango slices by drying at high temperatures. *Innovative Food Science & Emerging*
578 *Technologies*, 6, 412-419.
- 579 Sanchez, J. M., & Sacks, R. D. (2006). Development of a multibed sorption trap,
580 comprehensive two-dimensional gas chromatography, and time-of-flight mass spectrometry
581 system for the analysis of volatile organic compounds in human breath. *Analytical chemistry*,
582 78, 3046-3054.
- 583 Suwonsichon, S., Chambers Iv, E., Kongpensook, V., & Oupadissakoon, C. (2012).
584 Sensory Lexicon for Mango as Affected by Cultivars and Stages of Ripeness. *Journal of*
585 *sensory studies*, 27, 148-160.
- 586 Tharanathan, R. N., Yashoda, H. M., & Prabha, T. N. (2006). Mango(*Mangifera indica*
587 L.), “The King of Fruits”—An Overview. *Food Reviews International*, 22, 95-123.
- 588 The LRI and Odour Database. (2006). <http://www.odour.org.uk/index.html>. Accessed
589 June 2016.
- 590 Ting, V. J. L., Romano, A., Silcock, P., Bremer, P. J., Corollaro, M. L., Soukoulis, C., et
591 al. (2015). Apple flavor: Linking sensory perception to volatile release and textural
592 properties. *Journal of Sensory Studies*, 30, 195-210.
- 593 Ting, V. J. L., Romano, A., Soukoulis, C., Silcock, P., Bremer, P. J., Cappellin, L., et al.
594 (2016). Investigating the in-vitro and in-vivo flavour release from 21 fresh-cut apples. *Food*
595 *Chemistry*, 212, 543-551.
- 596 Tournier, C., Sulmont-Rossé, C., & Guichard, E. (2007). Flavour perception: aroma,
597 taste and texture interactions. *Food*, 1, 246-257.
- 598 Valente, M., Ribeyre, F., Self, G., Berthiot, L., & Assemat, S. (2011). Instrumental and
599 sensory characterization of mango fruit texture. *Journal of Food Quality*, 34, 413-424.
- 600 Van Ruth, S., & Roozen, J. (2000). Influence of mastication and saliva on aroma release
601 in a model mouth system. *Food Chemistry*, 71, 339-345.

602 Zardin, E., Tyapkova, O., Buettner, A., & Beauchamp, J. (2014). Performance
603 assessment of proton-transfer-reaction time-of-flight mass spectrometry (PTR-TOF-MS) for
604 analysis of isobaric compounds in food-flavour applications. *LWT - Food Science and*
605 *Technology*, 56, 153-160.

c) Résultats complémentaires

i) *Les composés aromatiques clés potentiels des produits de mangue*

Le calcul des OAVs par ratio de la concentration des COVs dans les produits de mangue sur le seuil de détection olfactif propre à chaque COV permet de rendre compte des composés qui contribueraient le plus à l'arôme des produits de mangue. Le tableau ci-contre (Tableau 17) énumère les OAVs calculées pour les composés extraits et analysés en SAFE/GC-MS sur les produits de mangues de l'étude (mêmes composés que ceux reportés en Table 3 dans l'article inséré précédemment, p181).

Il est admis que les composés dont l'OAV est supérieure à 1 peuvent être considérés comme potentiellement impactants dans l'arôme des produits. De plus, les nombreuses études réalisées en analyses GC-O sur mangue (AEDA, facteur de dilution FD, OAV) renseignent aussi sur les COVs clés de l'arôme de mangue fraîche (Bonneau, Boulanger, *et al.*, 2016; Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2014; Pino, 2012; Pino & Mesa, 2006). Ainsi les composés potentiels clés communs aux produits de mangue frais et séchés (OAV > 1, Tableau 17) seraient les COVs : α -pinène, δ -3-carène, β -myrcène, limonène et nonanal. De même, les composés camphène, (*E*)-non-2-éanal et (*E,Z*)-nona-2,6-diéanal apparaissent quant à eux comme des COVs clés plus spécifiques des produits de mangue frais. Tandis que les composés *p*-cymène, α -terpinolène, β -caryophyllène, hexanal, heptanal, butanoate de 3-méthylbutyle et γ -butyrolactone seraient plus caractéristiques de l'arôme des produits de mangue séchés.

Les composés α -phellandrène, β -ocimène, pent-1-ène-3-ol, δ -octalactone et γ -octalactone présents dans les produits de mangue sont aussi mentionnés comme importants dans l'arôme de mangue (OAV et FD importants) au vue de la littérature (Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2014; Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2016; Pino, 2012; Pino & Mesa, 2006). Ainsi, malgré des OAVs expérimentales inférieures à 1 (Tableau 17), ces composés pourraient aussi contribuer à l'arôme des produits d'étude.

Tableau 17. Composés d'arôme clé potentiels de l'arôme des produits de mangue frais et séchés.

Composés	OT [†]	Description olfactive [‡]	OAV Exp #		OAV Lit###	FD Lit¶
			Produits FRAIS	Produits SÉCHÉS		
Monoterpènes						
α-pinène	6	Boisée, térébenthine, verte, citrus	14.7	24.1	13 ^a	8 ^d
α-fenchène	n.f.	Fruitée, fraîche, camphrée	-	-		
camphène	0,15	Boisée, fruitée, camphrée, verte	4.5	t		
β-pinène	140	Boisée, résineuse, térébenthine, verte	< 0.1	0.1		
δ-3-carène	770	Fruité, citrus, agrumes	5.7	8.9	5 ^a ; 80 ^b	128 ^b
α-phellandréne	40	Boisée, citrus, herbacée, épicée	0.6	0.7	40 ^a	
β-myrcène	15	Boisée, résineuse, balsamique, éther	8.2	9.2	25 ^a ; 28 ^b ; 55 ^c	64 ^b ; 4-128 ^d
α-terpinène	85	Citron, éther, chimique	0.1	0.2		
sylvestrène	n.f.	n.f.	-	-		
limonène	10	Citrus, citron, orange, verte	10.9	14.7	1 ^a ; 47 ^b	128 ^b
β-phellandréne	500	Herbacée, thérébenthine, terpénique	0.1	0.1		
γ-terpinène	260	Citrus, herbacée, térébenthine, terpénique	< 0.1	< 0.1		
β-ocimène	34	Citrus, herbacée,	0.1	t		4-128 ^d
p-cymène	11,4	Citrus, fruité, verte, épicée	0.9	1.0		
α-terpinolène	200	Boisée, anisée, douce	0.9	1.1	1 ^a ; 230 ^b	512 ^b
p-cymenène	n.f.	Citrus, pin, terpénique	-	-		
Sesquiterpènes						
α-gurjunène	n.f.	Boisée, balsamique	-	-		
β-caryophyllène	64	Boisée, verte, épicée, terpénique	0.3	1.1	2 ^a ; 72 ^b	64 ^b
α-caryophyllène	160	Boisée, huileuse	0.2	0.5		
Norisoprenoïdes						
β-ionone	0,007	Violette, framboise, florale, chimique	t	t	2512 ^a ; 450 ^b	256 ^b ; 32-512 ^d
Hydrocarbures non-terpéniques						
toluène	n.f.	Chimique, synthétique, solvant	-	-		
p-xylène	n.f.	Grasse	-	-		
m-xylène	n.f.	Plastique, verte, rance	-	-		
o-xylène	n.f.	Grasse, géranium	-	-		
Alcools						
pentan-3-ol	n.f.	Fruitée, verte	-	-		
pentan-2-ol	n.f.	Verte, fruitée, chimique, douce	-	-		
pent-1-ène-3-ol	400	Beurre, rance, lait	< 0.1	< 0.1	10 ^a	
3-méthylbutan-1-ol ^s	300	Balsamic, maltée, rance, oignon	-	-		
& 2-méthylbutan-1-ol ^s	300	Grasse, vin, maltée, oignon	-	-		
pentan-1-ol	4000	Balsamique, verte, rance	< 0.1	< 0.1		
pent-2-ène-1-ol (isomer)	720	Champignon, verte, plastique	< 0.1	< 0.1		
hexan-1-ol	500	Grasse, verte, herbes, résine, florale	< 0.1	< 0.1		
(Z)-3-hexèn-1-ol	70	Verte, herbes coupées, fruitée	0.3	< 0.1		

octan-1-ol	190	Grasse, verte, brûlée, chimique	< 0.1	< 0.1		
2-phényléthanol	1100	Florale (rose, lila), miel, épicée, doux	n.d.	< 0.1	1.4 ^c	4-128 ^d
Aldéhydes						
hexanal	4,5	Grasse, herbes coupées, verte	t	1.1	16 ^a ; 2 ^b	32 ^b ; 8 ^d
heptanal	3	Grasse, rance, citrus, verte, poisson	n.d.	4.8	6 ^a	0
nonanal	1	Grasse, cire, citrus, verte, florale	4.6	17.4	20 ^a ; 10 ^b	32 ^b
(E)-non-2-éanal	0,08	Grasse, concombre, verte	36.4	t	750 ^b ; 1259 ^a	512 ^b ; 4- 128 ^d
(E,Z)-nona-2,6-diéanal	0,02	Concombre, melon, cire, verte	700.1	t	490 ^c ; 1000 ^b ; 31623 ^a	1024 ^b ; 4- 128 ^d
Cétones						
3-hydroxybutan-2-one	8000	Grasse, beurre, crème, rance	t	< 0.1		
Ester						
butanoate de 3-méthylbutyle	0,13	Fruitée, banane, abricot	n.d.	361.7		
Furanes						
2-pentylfuran	6	Grasse, beurre, douce	n.d.	t		
2-furfural	3000	Amande, caramel, grillée, grasse	n.d.	< 0.1		
5-méthylfurfural	1110	Amande, caramel, café, grillé	n.d.	t		
Lactones						
γ-butyrolactone	35	Caramel, douce	0.2	6.1		
γ-hexalactone	260	Coumarine, douce	< 0.1	< 0.1		
δ-octalactone	400	Douce	< 0.1	< 0.1	6 ^c	32-512 ^d
γ-octalactone	7	Noix de coco, caramel, grasse, grillée	0.4	t	5 ^c	

Légende :

† OT, seuil de détection olfactif des COVs dans l'eau (µg/kg) reportés dans la littérature : (Belitz, Grosch, *et al.*, 2009a; Boonbumrung, Tamura, *et al.*, 2001; Castro-Vazquez, Diaz-Maroto, *et al.*, 2006; Du, Finn, *et al.*, 2010; Ferreira, López, *et al.*, 2000; Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2016; Pino, 2012; Pino & Mesa, 2006) et databases (Leffingwell & Associates; The LRI and Odour Database, 2006).

‡ Descriptions odorantes des COVs reportées dans la littérature : databases (Flavornet; Pherobase; The LRI and Odour Database).

#OAV expérimentale calculée sur produits de mangue frais et séchés par ratio des concentrations des COVs avec les seuils de détection olfactif OT reportés.

##OAV reportées dans la littérature sur mangue fraîche : (a) Pino & Mesa (2006), (b) Pino (2012), (c) Munafo, Didzbalis, *et al.* (2016)

¶FD facteur de dilution reporté dans la littérature sur mangue fraîche : (b) Pino (2012), (d) Munafo, Didzbalis, *et al.* (2014)

Symboles: (\$) coélution de COVs, (n.f.) donnée non trouvée dans la littérature, (n.d.) COV non détecté dans le produit de mangue, (t) COVs détecté en quantité trace (l'OAV n'a pas pu être calculée), (-) seuil de détection olfactif du COV non trouvé dans la littérature (l'OAV n'a pas pu être calculée), (-^s) coélution de COVs (l'OAV n'a pas pu être calculée).

ii) *Étude du panel RATD : variabilités intra- et inter-individuelles sur la libération in vivo des COVs*

Une petite étude sur le panel RATD a été menée pour évaluer la répétabilité des juges (variabilité de libération in vivo des COVs intra-individuelle) ainsi que la disparité des juges du panel (variabilité de libération *in vivo* des COVs inter-individuelle) vis-à-vis des expériences *in vivo* RATD/GC-MS menées sur les produits de mangue frais et séchés. Des tests non-paramétriques pour chaque juge et par COV ont également été conduits pour discriminer les produits en fonction de la libération *in vivo* des COVs en RATD/GC-MS.

Les différences significatives de libération *in vivo* des COVs entre produits de mangue par sujet et par COV en RATD/GC-MS sont présentées ci-contre pour les produits frais (Tableau 18) et pour les produits séchés (Tableau 19). Les variabilités de libération *in vivo* intra- et inter-indivuelles sur le total des COVs extraits sont également présentées dans ces mêmes tableaux (coefficient de variation, CV).

En ce qui concerne les variabilités intra-individus, les coefficients de variations calculés sur le total des COVs extraits par produit de mangue indiquent que les sujets ont été bien plus répétables sur purée fraîche et poudre séchée que sur cubes frais et cubes séchés. Autrement dit, les sujets présentent une variabilité de libération *in vivo* des COVs intra-individuelle plus grande sur produits structurés que déstructurés. Précédemment, sur purée industrielle standardisée (cf. Chapitre *Résultats & Discussion*, Partie 2, §4.4.2.a)iii), p 157), les sujets J₄ et J₅ présentaient en RATD simple/GC-MS des variabilités intra-indivuelles inférieures à 30 % pour chaque COV et sur le total des COVs extraits. Ici, les variabilités intra-individus sur purée fraîche et poudre séchée de mangue sur le total des COVs extraits sont comparables à celles obtenues précédemment pour les sujets J₄ et J₅. La libération *in vivo* des COVs, plus variable sur produits structurés, peut être expliquée par le fait que, inconsciemment, certains individus peuvent changer leur comportement de dégustation en préparation de la déglutition des bols alimentaires. En effet, les produits structurés (surtout dans le cas des cubes séchés) sont plus difficiles à travailler en bouche, certains paramètres physiologiques oraux peuvent alors être différents par rapport à ceux adoptés sur produits déstructurés tels que : la force de mastication ou de respiration des sujets. Les produits structurés, plus tenaces en bouche, peuvent également rester coincés en particules plus ou moins petites entre les dents et introduire un biais dans la libération des COVs après déglutition.

Le sujet J-Moy représente l'ensemble du panel RATD (8 panélistes x 4 dégustations par produit). Les CV calculés sur le total des composés extraits sur les différents produits de mangue montrent les variabilités de libération *in vivo* inter-individuelles. Ces variabilités sont en général plus grandes que les variabilités intra-individus observées. Toutefois, les variabilités inter-sujets sur purée fraîche et poudre séchée sont assez proches des variabilités intra-sujets observées sur ces mêmes produits.

Les différences significatives de libération *in vivo* des COVs observées sur produits frais (Tableau 18) montrent que les sujets J₅, J₇, J₈ et, dans une moindre mesure le sujet J₃, contribuent fortement aux résultats *in vivo* de la moyenne des sujets soit J-Moy (moyenne des résultats obtenus sur les 4 dégustations des 8 sujets pour chaque produit de mangue, soit 32 observations par produit)

De même, sur produit séchés (Tableau 19), les sujets J₁ et J₃ construisent en grande partie les résultats de J-Moy. Le fait que la libération *in vivo* des COVs soit peu significative pour une majorité de juges vient en grande partie des variabilités intra-individuelles importantes sur produits structurés.

Les conclusions de ces travaux quant à la libération *in vivo* des COVs en fonction de la texture de la mangue fraîche et séchée ont été faites en considérant la moyenne des sujets soit J-Moy dont les résultats tiennent compte de toutes les variabilités expérimentales mises en jeu. Ainsi, malgré des variabilités intra- et inter-individuelles importantes, des différences significatives sur la libération *in vivo* des COVs ont pu être démontrées en fonction de l'état textural du produit consommé (structuré/déstructuré).

Tableau 18 : Différences significatives de libération *in vivo* des COVs et variabilités intra- et inter-sujets sur produits de mangue frais pour les 8 panélistes RATD.

Composés ^a	Différences significatives entre produits FRAIS de mangue (purée et cubes) ^b								J-Moy
	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	
α-pinène	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	*	***
camphène	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
α-fenchène ^(SQ)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*	**
β-pinène	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
β-myrcène	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*	***
δ-3-carène	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*	***
α-terpinène	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*	**
limonène	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*	**
sylvestrène ^(SQ)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*	***
β-phellandrene ^(SQ)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*	***
p-cymène	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*
β-ocimène	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.
γ-terpinène	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**
monoterpène inconnu ^(SQ)	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	n.s.	*	*	***
terpinolène	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*	***
p-cymenène ^(SQ)	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	n.s.	*	n.s.	***
α-gurjunène	n.s.	*	*	*	*	n.s.	n.s.	n.s.	***
β-caryophyllène	n.s.	n.s.	*	*	n.s.	*	*	n.s.	***
α-caryophyllène	n.s.	n.s.	*	*	*	*	*	n.s.	***
Total des COVs extraits	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*	***
Répétabilité du juge J_i sur la purée fraîche	31.4	14.8	48.2	18.3	39.7	35.9	19.1	40.4	40.9
CV-Purée fraîche (Total)									
Répétabilité du juge J_i sur les cubes frais	96.2	115.1	60.4	66.5	85.3	76.1	38.5	48.3	110.5
CV-Cubes frais (Total)									

Légende :

^aComposés extraits en *in vivo* RATD/GC-MS qui ont été quantifiés (en ng/kg MS) ou semi-quantifiés (en µg équivalent d'α-cédrène /kg de MS) ; CV-Purée (Total) le coefficient de variation calculé sur le total des COVs libérés et extraits sur purée fraîche ; CV-Cubes (Total) le coefficient de variation calculé sur le total des COVs libérés et extraits sur cubes frais ; CV < 30% ; CV ∈ [30 % - 40 %] ; CV > 40%

^bTests statistiques non-paramétriques de Mann-Whitney (avec un risque α de 5%), réalisés par panélistes RATD J_i (4 dégustation/produit) et sur l'ensemble des panélistes J-Moy (8 panélistes x 4 dégustations/produit) avec (*) α < 5%; (**) α < 1%; (***) α < 0.1% ; (n.s.) non significatif; sur produits de mangue frais

Tableau 19 : Différences significatives de libération *in vivo* des COVs et variabilités intra- et inter-sujets sur produits de mangue séchés pour les 8 panélistes RATD.

Composés ^a	Différences significatives entre produits SÉCHÉS de mangue (purée et cubes) ^b								J-Moy
	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	
α-pinène	*	n.s.	*	n.s.	*	*	n.s.	n.s.	***
camphène	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	***
α-fenchène ^(SQ)	*	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	***
β-pinène	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
β-myrcène	*	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*
δ-3-carène	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*
α-terpinène	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**
limonène	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	*
sylvestrène ^(SQ)	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
β-phellandrene ^(SQ)	*	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*
p-cymène	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**
β-ocimène	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	**
γ-terpinène	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
monoterpène inconnu ^(SQ)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
terpinolène	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
butanoate de 3-méthylbutyle	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
p-cymenène ^(SQ)	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
α-gurjunène	*	n.s.	*	*	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.
β-caryophyllène	*	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
α-caryophyllène	*	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**
Total des COVs extraits	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*
Répétabilité du juge_{J_i} sur la poudre séchée CV-Poudre séchée (Total)	15.2	56.6	16.2	13.0	11.4	19.2	20.7	16.6	44.3
Répétabilité du juge_{J_i} sur les cubes séchés CV-Cubes séchés (Total)	60.7	65.1	99.4	94.5	81.5	113.7	135.0	87.0	103.6

Légende :

^aComposés extraits en *in vivo* RATD/GC-MS qui ont été quantifiés (en ng/kg MS) ou semi-quantifiés (en µg équivalent d'α-cédrène /kg de MS) ; CV-Poudre (Total) le coefficient de variation calculé sur le total des COVs libérés et extraits sur poudre séchée de mangue ; CV-Cubes (Total) le coefficient de variation calculé sur le total des COVs libérés et extraits sur cubes séchés de mangue ; CV < 30% ; CV ∈ [30 % - 40 %] ; CV > 40%

^bTests statistiques non-paramétriques de Mann-Whitney (avec un risque α de 5%), réalisés par panélistes RATD J_i (4 dégustation/produit) et sur l'ensemble des panélistes J-Moy (8 panélistes x 4 dégustations/produit) avec (*) α < 5%; (**) α < 1%; (***) α < 0.1%; (n.s.) non significatif; sur produits de mangue séchés

d) Résumé et résultats principaux obtenus sur la libération *in vivo* des COVs des produits de mangue

En amont de l'étude *in vivo*, les profils aromatiques des produits de mangue ont été étudiés par SAFE/GC-MS. Les résultats obtenus sont en accord avec ceux précédemment décrits dans l'article présenté en Partie 1 de ce chapitre *Résultats & Discussions* (cf. Partie 1, §4.2.2, p 129).

Les produits frais et séchés, préparés à partir de mangues Kent, présentent majoritairement des composés terpéniques à hauteur de 93% pour les produit frais et 84 % pour les produits séchés. Le δ -3-carène est de loin le terpène le plus abondant suivi des terpènes α -terpinolène, β -myrcène, limonène, α -pinène, β -phellandrène, α -caryophyllène, α -phellandrène et β -caryophyllène. Les alcools, aldéhydes et lactones sont les autres classes chimiques principales des produits de mangue de l'étude. L'opération de séchage réalisée pour élaborer les produits de mangue séchés induit, incontestablement, des différences aromatiques significatives entre les produits frais et séchés. Tout comme observé précédemment, le séchage génère des pertes de composés, mais aussi la production ou l'apparition de nouveaux composés. Ainsi, le profil aromatique des produits frais présente une teneur totale en composés de 26.3 mg/kg de MS pour 44 COVs identifiés, contre une teneur totale en COVs de 10.3 mg/kg de MS pour 50 COVs identifiés pour les produits séchés. Les produits frais sont plus riches en composés terpéniques et en certains alcools, aldéhydes et lactones (pent-1-ène-3-ol, (*E*)-non-2-éanal, (*E,Z*)-nona-2,6-diéanal, γ -hexalactone, δ - et γ -octalactone) comparés aux produits séchés. À l'inverse, les produits séchés sont plus abondants en certains composés (γ -butyrolactone, 3-méthylbutan-1-ol, hexanal), et quelques composés sont uniquement présents dans les produits séchés (2-phényléthanol, heptanal, butanoate de 3-méthylbutyle, 2-pentylfurane, 2-furfural et 5 méthylfurfural).

Sur les 50 COVs détectés en SAFE/GC-MS, 20 COVs peuvent être considérés comme aromatiquement impactants dans les produits de mangue, d'après le calcul des OAVs, et les données recueillies de la littérature sur mangue fraîche (Bonneau, Boulanger, *et al.*, 2016; Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2014; Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2016; Pino, 2012; Pino & Mesa, 2006). Parmi ces 20 COVs clés : 14 composés sont communs aux produits de mangue frais et séchés (α -pinène, δ -3-carène, α -phellandrène, β -myrcène, limonène, β -ocimène *p*-cymène, α -terpinolène, β -caryophyllène, pent-1-ène-3-ol, hexanal, nonanal, δ -octalactone et γ -octalactone); 3 COVs sont plus spécifiques de l'arôme des produits frais (camphène,

(*E*)-non-2-énal et (*E,Z*)-nona-2,6-diéнал) ; et 3 COVs plus caractéristiques de l'arôme des produits séchés (heptanal, butanoate de 3-méthylbutyle et γ -butyrolactone).

Une fois le potentiel aromatique des produits de mangue connu, la libération *in vivo* des COVs des produits d'étude a été étudiée par RATD/GC-MS au moyen d'un protocole de dégustation imposé (animation visuelle) et d'un panel RATD constitué de 8 sujets (3F/5H).

L'ensemble des résultats obtenus en RATD/GC-MS (4 produits x 4 dégustations x 8 sujets, soit 128 observations) a été :

- moyenné de manière à présenter une libération *in vivo* des COVs pour un sujet moyen J-Moy (moyenne des résultats obtenus sur les 4 dégustations des 8 sujets pour chaque produit de mangue, soit 32 observations par produit)
- soumis à des tests statistiques non-paramétriques afin d'évaluer l'impact de la texture des produits de mangue sur la libération *in vivo* des COVs (Tests de Mann-Whitney, avec un risque α de 5%, opérés d'une part sur les 68 observations sur produits frais et d'autre part sur les 68 observations sur produits séchés)

Les résultats *in vivo* RATD/GC-MS traités ainsi sont présentés précédemment dans l'article en Table 4 (cf. p185).

Ainsi, le sujet J-Moy permet de rendre compte de l'impact de la texture des produits de mangue sur la libération *in vivo* des COVs pour une population donnée, en incluant les variables physiologiques intra- et inter-individuelles. L'étude de panel réalisée précédemment (cf. Partie 2, 4.4.3.c)ii), p 195) a montré que les 8 sujets J_i du panel RATD ainsi que le sujet moyen J-Moy sont répétables à 30-40 % sur produits homogènes déstructurés (purée fraîche et poudre séchée) tout comme pour les sessions d'optimisation du protocole faites sur purée industrielle de mangue avec les sujets J_4 et J_5 (cf. Chapitre *Résultats & Discussion*, Partie 2, *Test des temps de repos*, §4.4.2.a)iii), p 157).

Le protocole de dégustation imposé a donc joué un rôle important pour pouvoir observer un effet texture des produits qui soit plus important statistiquement que l'effet sujet sur la libération *in vivo* des COVs.

Sur les 50 COVs observés en SAFE/GC-MS sur les produits de mangue, seuls 21 COVs ont été retrouvés et suivis en RATD *in vivo*. Les composés terpéniques, majoritaires dans l'arôme des produits de mangue, ont tous été identifiés en libération *in vivo* RATD/GC-MS, soient 17 monoterpènes et 3 sesquiterpènes. Seul le butanoate de 3-méthylbutyle typique des produits séchés a été observé en *in vivo* en plus des terpènes.

Sur les produits frais, 13 monoterpènes et les 3 sesquiterpènes sont libérés significativement plus sur cubes frais que sur purée fraîche de mangue, dont 8 terpènes (α -pinène, β -myrcène, δ -3-carène, α -phellandrène, limonène, p-cymène, α -terpinolène et β -caryophyllène) peuvent être considérés comme clés dans l'arôme des produits frais d'après les OAVs et les données GC-O de la littérature. De plus, en considérant le total des COVs, la dégustation des cubes frais entraîne une libération *in vivo* des COVs de 84 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de MS contre 27 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de MS pour la purée fraîche.

Dans le même sens, pour les produits séchés, 10 monoterpènes et 1 sesquiterpène (α -caryophyllène) sont libérés significativement plus sur cubes séchés que sur poudre séchée de mangue, dont 7 COVs (α -pinène, β -myrcène, δ -3-carène, α -phellandrène, limonène, p-cymène et β -ocimène) peuvent être considérés comme importants dans l'arôme des produits séchés. Sur le total des COVs extraits, les cubes séchés libèrent en *in vivo* une teneur en COVs de 56 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de MS contre 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de MS pour la poudre séchée.

Ainsi, la libération *in vivo* des COVs est significativement impactée par l'état textural du produit de fruit consommé. Les produits de fruit structurés (cubes frais et séchés de mangue), libèrent ainsi significativement plus de COVs en cours de dégustation *in vivo* que les produits de fruit déstructurés (purée fraîche et poudre séchée de mangue).

Dans la littérature, des tendances de libération *in vivo* des COVs sur fruits réels et modèles ont été observées et appuient les résultats expérimentaux obtenus.

Les auteurs Frank, Eyres, *et al.* (2012) ont étudié la libération *in vivo* des COVs sur des produits d'orange et de carotte aux textures différentes. Dans cette étude, les auteurs ont utilisé un protocole de dégustation comparable à celui mis en place dans ces travaux de thèse, celui-ci a été imposé à 8 panélistes en PTR-MS. Les tendances de libération *in vivo* des COVs décrites par ces auteurs, en considérant les résultats AUC (area under the curve), sont similaires à ceux obtenus expérimentalement en RATD/GC-MS. En effet, les panélistes ont libéré plus de COVs en *in vivo* sur morceaux d'orange, que sur gelée d'orange et que sur jus d'orange. Dans le même sens, les morceaux de carotte ont libéré plus de COVs en *in vivo* que le jus de carotte. Ainsi il apparaît que les matrices solides de fruit ou de légume présentent une libération *in vivo* des COVs plus importante que les matrices semi-solides, elle-même plus que les matrices liquides.

Les travaux de Ting *et al.* (Ting, Romano, *et al.*, 2016; Ting, Soukoulis, *et al.*, 2012) ont également montré sur 21 variétés de pomme, que les panélistes libèrent plus de COVs en

in vivo en PTR-MS sur les pommes fermes que sur les pommes souples. Cependant, ces résultats peuvent être discutables du fait que les auteurs ont utilisé un protocole de dégustation libre et que les variétés de pomme n'étaient pas toutes comparables aromatiquement.

Les travaux de Boland, Delahunty, *et al.* (2006) réalisés sur gels pectiques peuvent s'apparenter à une étude sur matrice modèle de fruits. Ces auteurs ont étudié l'impact de la fermeté de différents gels de pectine sur la libération *in vivo* des COVs d'un arôme fraise en PTR-MS avec un protocole de dégustation libre. Les résultats obtenus ont montré que des gels pectiques fermes (taux de pectine important) libéraient plus de COVs en *in vivo* que des gels pectiques souples (taux de pectine moindre).

Ainsi, l'ensemble des données recueillies dans la littérature tendent à confirmer que pour des produits de fruit comparables d'un point de vue aromatique, les produits de fruit structurés libèrent plus de COVs en cours de dégustation *in vivo* que les produits de fruit déstructurés.

En ce qui concerne les résultats obtenus en analyse sensorielle, ces derniers seront présentés et discutés dans la Partie 3 de ce chapitre *Résultats & Discussions* (cf. Partie 3, p 213)

4.4.4. Conclusion

Les COVs retrouvés en *in vivo* se trouvent être les composés majoritaires des profils aromatiques des produits de mangue observés en SAFE/GC-MS, à savoir les composés terpéniques. Un ester a également été suivi en *in vivo* dans le cas des produits séchés.

La technique RATD/GC-MS mise en place et le protocole de dégustation imposé ont permis d'observer que la texture des produits de mangue impacte significativement la libération *in vivo* des COVs. Il apparaît clairement que les produits structurés (cubes frais et séchés) relarguent plus de COVs en *in vivo* que les produits déstructurés (purée fraîche et poudre séchée). Ces conclusions ont pu être appuyées par de précédant travaux sur fruits mené en PTR-MS (Boland, Delahunty, *et al.*, 2006; Frank, Eyres, *et al.*, 2012; Ting, Romano, *et al.*, 2016)

4.5. Étude de l'impact de la salive humaine sur la libération des composés d'arôme de mangue en condition *in vitro*

Les résultats obtenus en RATD/GC-MS sur les produits de mangue de l'étude ont démontré que les produits structurés (cubes de mangue frais et séchés) libéraient davantage de composés d'arôme en *in vivo* que les produits déstructurés (purée fraîche et poudre séchée).

Cette tendance de libération pourrait être, d'une part, expliquée par la texture des produits, et d'autre part, par la physiologie orale des sujets. La physiologie orale pré-dégustation et les cycles de respiration, mastication et déglutition des sujets ainsi que le temps de consommation des produits étant déjà standardisés, l'hypothèse émise est que la présence de salive dans le bol alimentaire pourrait contribuer à la rétention des composés d'arôme au même titre que la texture du produit. En effet, dans la littérature, bon nombre de travaux ont déjà été menés sur l'impact de salive sur la libération des COVs en condition *in vitro* (Genovese, Piombino, *et al.*, 2009; Mehinagic, Prost, *et al.*, 2004; Muñoz-González, Feron, *et al.*, 2014; Van Ruth, Grossmann, *et al.*, 2001; Van Ruth & Roozen, 2000; Van Ruth, Roozen, *et al.*, 1995). Les résultats obtenus montrent que la salive humaine peut avoir un effet salting-in ou bien salting-out sur la libération des COVs en fonction de la nature des composés.

Dans le cadre de ces travaux de thèse, l'hypothèse posée serait que, s'il y a rétention salivaire, alors celle-ci serait plus importante pour les produits déstructurés que structurés. Afin de vérifier cette hypothèse, des expériences *in vitro* en P&T ont été réalisées dans des conditions se rapprochant au mieux des conditions *in vivo*. Contrairement aux simulateurs de dégustation utilisés dans la littérature (Arvisenet, Billy, *et al.*, 2008; Benjamin, Silcock, *et al.*, 2012; Salles, Tarrega, *et al.*, 2007; Van Ruth & Roozen, 2000), les cycles de mastication et de respiration n'ont pas été reproduits ici en conditions *in vitro* de manière à n'étudier que l'impact salive sur la libération des COVs, d'où le matériel et la procédure *in vitro* simple mise en place en P&T dans cette partie.

Dans un 1^{er} temps, il a été nécessaire d'évaluer la quantité de salive à utiliser pour réaliser les expériences *in vitro*. Ainsi, une étude sur les bols alimentaires des panélistes RATD sur produits de mangue frais et séchés a ainsi été réalisée afin d'obtenir un ratio expérimental salive/produit. En parallèle de cette étude, la salive des panélistes RATD a été récoltée de manière à constituer un pool de salives humaines pour les expériences *in vitro*.

Dans un 2^{ème} temps, un protocole P&T *in vitro* a été mis en place et optimisé de manière à étudier l'impact de la salive sur la libération des COVs. Les conditions d'extraction P&T se veulent au plus proche des conditions *in vivo* tout en étant reproductibles.

Enfin, une fois le protocole P&T *in vitro* validé, celui-ci a été appliqué sur les produits de mangue de l'étude (produits issus du lot de mangues Kent de Côte d'Ivoire utilisés précédemment en RATD/GC-MS, p 167) et avec le pool de salives des panélistes RATD. Les résultats obtenus en *in vitro* par P&T/GC-MS ont permis de comprendre la contribution de la salive dans les résultats de tendance de libération *in vivo* des COVs obtenus par RATD/GC-MS.

4.5.1. Étude des bols alimentaires : détermination du ratio salive/produits de mangue

Cinq sujets du panel RATD (1F/4H) ont dégusté une fois chaque produit de mangue de l'étude dans les mêmes conditions expérimentales que les séances de dégustation produit en RATD (physiologie orale initiale de repos et cycles de respiration, mastication et déglutition standardisés avec l'animation visuelle). Soit, 32 sec. après avoir mastiqué l'échantillon (10 g de produit frais ou 3 g de produit séchés), les bols alimentaires des sujets ont été récupérés et la quantité de salive produite pour chaque sujet a été calculée.

Les quantités moyennes de salive produites pour l'ensemble du panel par gramme de produit de mangue sont présentées en Figure 39 (ratio gramme de salive produite par gramme de produit consommé, 5 sujets RATD x 1 dégustation par produit de mangue).

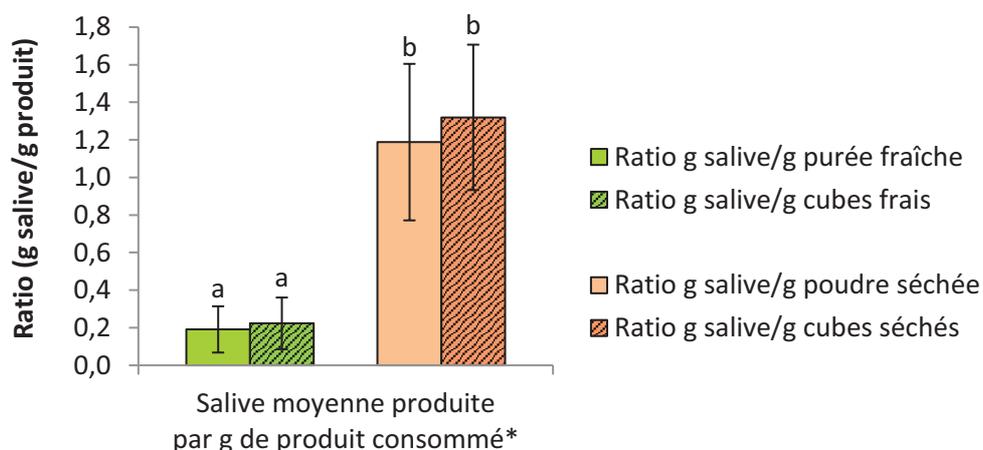


Figure 39. Quantité de salive moyenne produite lors de la consommation des produit frais et séchés de mangue par le panel (ratio g de salive produite / g de produit consommé).

*Test non-paramétriques de Kruskal-Wallis et de comparaison par paire de Conover-Iman avec correction de Bonferroni et un risque α de 5%

Les quantités moyennes de salive produites entre produit frais (purée/cubes) ne sont pas significativement différentes. Il en va de même pour les produits séchés (poudre/cubes).

Ainsi, en moyenne :

- pour les produits frais : les bols alimentaires du panel présentent un ratio de 0.22 g salive/ g produit, soit 2.2 g de salive produite pour 10 g de produit frais
- pour les produits séchés : les bols alimentaires du panel présentent un ratio de 1.25 g salive/ g produit, soit 3.8 g de salive produite pour 3 g de produit séché

D'après les tests non-paramétriques, les panélistes produisent donc plus de salive sur produits séchés que sur produit frais en considérant le ratio g salive/g de produit. Cependant, en considérant les produits en équivalent matière sèche, les bols alimentaires du panel sur les produits frais présentent, en moyenne, un ratio de 1.41 g salive/ g MS et sur produits séchés de 1.13 g salive/ g MS (Figure 40). Ces moyennes ne sont pas significativement différentes, autrement dit, les panélistes sécrètent la même quantité de salive par g de MS entre produits frais et produits séchés.

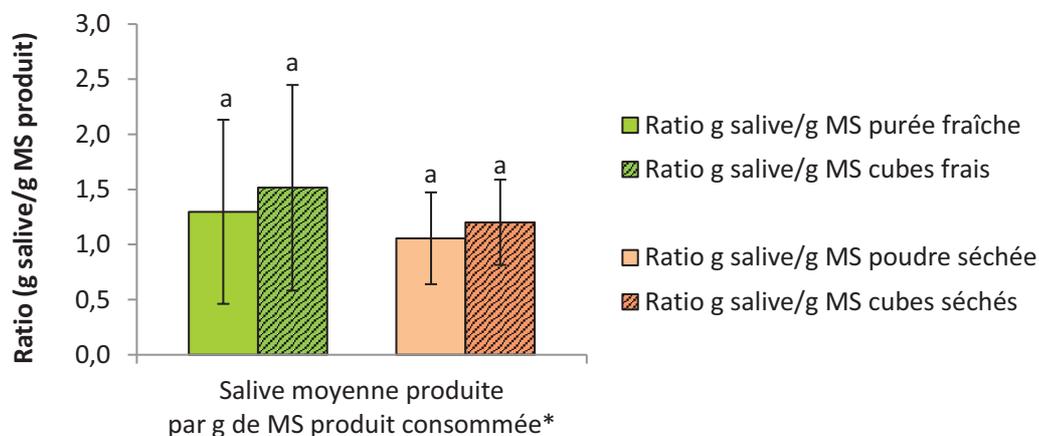


Figure 40. Quantité de salive moyenne produite lors de la consommation des produit de mangue par le panel en équivalent matière sèche (ratio g de salive produite / g de MS de produit consommé).

*Test non-paramétriques de Kruskal-Wallis et de comparaison par paire de Conover-Iman avec correction de Bonferroni et un risque α de 5%

Ainsi, les quantités de salive à utiliser pour la suite des expériences *in vitro* sont de :

- 2.2 g de pool de salives humaines pour 10 g de produit frais (purée/cubes).
- 3.8 g de pool de salives humaines pour 3 g de produit séché (poudre/cubes).

4.5.2. Récolte d'un pool de salives humaines : observation des flux salivaires de repos et stimulés sur produits de mangue

Les récoltes de salives humaines ont été réalisées sur 7 panélistes dont 6 personnes faisant partie du panel RATD (2F/4H) et 1 personne supplémentaire (1F). Le mélange de ces salives constitue le pool de salives humaines qui a servi aux expériences *in vitro*.

Chaque quantité de salive récupérée a été minutieusement pesée pour chaque sujet afin de calculer les flux salivaires de repos. En considérant uniquement les 5 panélistes RATD ayant participé aux récoltes des bols alimentaires et du pool de salives humaines, le flux salivaire moyen de repos du panel sur 32 sec. a pu être calculé et comparé au flux salivaire moyen stimulé du panel sur 32 sec. sur produits de mangue frais et séchés (Figure 41).

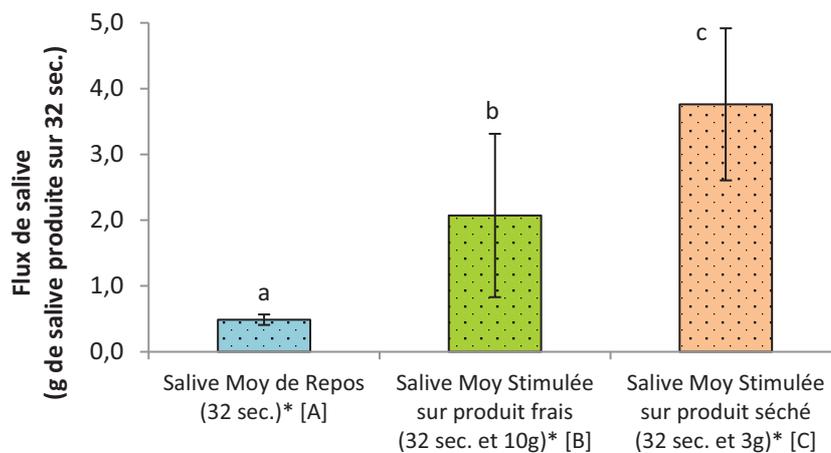


Figure 41. Quantité de salive moyenne produite au repos ou lors de la consommation des produits de mangue par le panel sur 32 sec. (g de salive produite sur 32 sec.).

Légende :

***Test non-paramétriques** de Kruskal-Wallis et de comparaison par paire de Conover-Iman avec correction de Bonferroni et un risque α de 5%

[A] : Salive Moyenne de repos sécrétée sur 32 sec. (5 sujets x 4 récoltes sur 5 min).

[B] : Salive Moyenne stimulée sécrétée sur produits frais sur 32 sec. (5 sujets x 2 produits x 1 récolte sur 32 sec.)

[C] : Salive Moyenne stimulée sécrétée sur produits séchés sur 32 sec. (5 sujets x 2 produits x 1 récolte sur 32 sec.)

Ainsi, d'après les tests non-paramétriques, le flux salivaire moyen du panel est différent suivant la physiologie orale des sujets (repos/stimulée) et suivant le produit consommé (frais/séché). Comme mentionné dans la littérature (Drago, Panouillé, *et al.*, 2011), le panel RATD présente bien un flux salivaire expérimental de repos (1 g/min) inférieur au flux salivaire stimulé (4 à 7.5 g/min). Cette tendance montre bien l'importance de la disposition physiologique orale des panélistes en amont des dégustations produit. D'où les précautions prises lors des expériences RATD quant aux temps de repos entre dégustation et au rinçage de la cavité orale pour retrouver une physiologie orale de repos avant chaque dégustation.

4.5.3. Expériences menées en conditions *in vitro*

a) Optimisation du protocole *in vitro*

Afin de mettre en place un protocole P&T *in vitro* exploitable pour étudier l'impact de la salive sur la libération des COVs de mangue, plusieurs paramètres ont été testés dont : le mode d'extraction des COVs par le gaz vecteur (P&T par bullage/effleurage) ; le débit du gaz vecteur (100mL/min, 300mL/min) et le temps d'extraction (1min/2min/5min). Les paramètres P&T fixés pour les tests d'optimisation sont : la température d'extraction fixée à 37°C simulant la température en bouche d'un sujet, et le ratio de dilution purée de mangue/eau milli-Q (10g/2g) simulant le bol alimentaire d'un sujet sur produit de mangue frais (ratio de dilution produit/salive respecté).

Sur les résultats P&T/GC-MS obtenus, seuls quelques composés vus en *in vivo* RATD ont été suivis sur cette purée de mangue test afin d'évaluer les différents paramètres d'extraction P&T. Les résultats des différents tests d'optimisation sur ces composés sont présentés dans le tableau ci-contre (Tableau 20).

Les coefficients de variation calculés sur les 4 répétitions P&T permettent d'apprécier la répétabilité du protocole pour chaque composé. Les tests statistiques non-paramétriques permettent de mettre en évidence les variables ayant la plus grande influence sur l'extraction de chaque COVs.

Il apparaît ainsi que la technique d'extraction P&T par effleurage est moins répétable et extrait moins de composés volatils que la technique d'extraction P&T par bullage.

Tableau 20. Tests d'optimisation du protocole de dégustation *in vitro* par P&T sur purée de mangue fraîche.

Technique d'extraction P&T ^a	Quantité moyenne de COVs extraits (µg/kg de MS) ^b															
	α-pinène*		δ-3-carène* [†] & α-phellandrene [†]		α-terpinène*		Sylvestrène ^(SQ)		β-phellandrène ^(SQ)		Monoterpène inconnu ^(SQ)		α-terpinolène*		β-caryophyllène*	
	Moy	CV	Moy	CV	Moy	CV	Moy	CV	Moy	CV	Moy	CV	Moy	CV	Moy	CV
P&T par Bullage																
D ₁₀₀ (1min)	1.1 de	12.1	61.7 e	9.8	0.5 de	11.3	0.1 ef	17.4	0.2 ef	14.1	0.1 de	13.7	4 ef	12.6	1.6 def	17.2
D ₁₀₀ (2min)	2.9 c	8.3	153.1 c	7.2	1.3 c	7.5	0.2 cd	7.5	0.5 cd	7.9	0.3 c	7.0	10.9 cd	6.1	3.9 cd	25.6
D ₁₀₀ (5min)	9.6 b	4.9	481 b	5.7	4.5 b	7.3	0.4 b	5.4	1.7 b	7.0	0.8 b	6.6	37.6 b	7.3	19.2 b	10.5
D ₃₀₀ (1min)	2.5 cd	23.2	130.1 cd	21.6	1.0 cd	21.5	0.2 cde	20.8	0.4 cde	24.1	0.2 cd	23.4	8.6 de	22.9	3 de	41.3
D ₃₀₀ (2min)	3.7 c	21.6	192.5 c	21.9	1.7 c	26.3	0.2 c	29.4	0.6 c	40.6	0.3 c	25.8	14.4 c	24.9	6.1 c	23.1
D ₃₀₀ (5min)	11.5 a	10.4	571.4 a	9.6	5.5 a	11.2	0.5 a	16.1	2.1 a	9.6	1.0 a	10.3	46.3 a	9.8	23.8 a	4.2
P&T par Effleurage																
D ₁₀₀ (1min)	0.3 e	23.3	22.6 e	18.7	0.1 e	24.6	0.1 f	25.5	0.1 f	18.2	0.1 e	20.1	0.9 f	17.4	< 0.1 f	-
D ₁₀₀ (2min)	0.7 e	26.0	37.5 e	24.9	0.3 e	31.0	0.1 f	27.8	0.1 f	30.9	0.1 e	30.0	2.4 f	27.5	1.0 ef	34.1
D ₁₀₀ (5min)	1.4 de	14.6	72.0 de	15.4	0.6 de	19.3	0.1 def	26.3	0.2 def	13.5	0.1 de	18.6	4.9 ef	17.5	2.4 def	36.7
D ₃₀₀ (1min)	0.4 e	12.1	30.0 e	15.0	0.2 e	40.0	0.1 f	53.2	0.1 f	17.7	0.1 e	21.4	1.3 f	16.0	< 0.1 f	-

Légende :

^aTechnique d'extraction P&T, exemple : D₁₀₀(1 min), débit du gaz vecteur de 100mL/min et temps d'extraction P&T de 1min.

^bQuantité moyenne des COVs extraits (Moy) sur les 4 répétitions P&T (CV, coefficient de variation, < 10 %) avec tests non-paramétriques de Kruskal-Wallis et de comparaison par paire de Conover-Iman avec correction de Bonferroni et un risque α de 5% (différences significatives avec quantité moyenne de COVs haute, a, b, c)

*Quantification des composés (en µg/kg de MS) d'après les courbes de calibration réalisées.

^(SQ)Semi-quantification des composés (en µg équivalent d'α-cédrène /kg de MS).

[†]Les composés δ-3-carène et α-phellandrene sont co-elus sur colonne DB-1701. Sur la variété Kent, la contribution d'α-phellandrene au signal GC-MS obtenu est négligeable par rapport à celle du δ-3-carène (cf. résultats SAFE/GC-MS obtenus sur DB-WAX sur les différents produits de mangue Kent frais et séchés).

En ce qui concerne les variables testées sur P&T par bullage, 3 modes d'extraction (débit/temps d'extraction) ressortent d'un point de vue :

- *répétabilité* (CV < 10%) : D₁₀₀ (5 min) meilleure que D₁₀₀ (2 min) et toutes deux meilleures que D₃₀₀ (5 min).
- *potentiel d'extraction des COVs* : D₃₀₀ (5 min) meilleure que D₁₀₀ (5 min) et toutes deux meilleures que D₁₀₀ (2 min).

Pour être au plus proche des conditions *in vivo*, le choix du protocole P&T, parmi ces 3 modes d'extraction satisfaisants, doit se faire par consensus de la répétabilité du protocole, de la quantité des COVs extraits et du temps d'extraction. En effet, le temps d'extraction détermine aussi le temps de contact entre l'aliment et la salive humaine. En condition *in vivo*, lors des expériences RATD, la préparation du bol alimentaire (phase pré-déglutition) imposée aux sujets est de 32 sec. Le protocole P&T à choisir doit donc se rapprocher au mieux de ce temps de dégustation.

Ainsi, au regard des expériences *in vivo* menées en RATD, le mode d'extraction P&T par bullage avec un débit de gaz vecteur de 100mL/min et un temps d'extraction de 2 min semble être le meilleur compromis. C'est donc ces paramètres qui ont été validés pour la suite des expériences *in vitro*.

b) Application du protocole *in vitro*

Le protocole P&T *in vitro* validé précédemment (§4.5.3.a), p 207) et les ratios de dilution produit/salive déterminés auparavant (§4.5.1, p 204) ont été appliqués sur les produits de mangue de l'étude. Les résultats obtenus en P&T/GC-MS sont présentés dans le tableau ci-contre (Tableau 21).

Les 21 composés relargués en *in vivo* lors des expériences RATD sont de nouveau observés en expérience *in vitro* P&T. Seul l'ester, le butanoate de 3-méthylbutyle, est spécifique aux produits séchés.

Pour les produits frais, les tests statistiques montrent que la présence de salive dans les bols alimentaires n'influence pas la libération des composés d'arôme, quel que soit le produit frais utilisé (purée/cubes). En revanche, les tests montrent que la libération *in vitro* des composés est fonction de la texture du produit frais (produit structuré/déstructuré). En effet, les sesquiterpènes α -gurjunène, β -caryophyllène et α -caryophyllène sont davantage relargués sur cubes (avec/sans salive) que sur purée (avec/sans salive). Cette tendance de libération

in vitro suit celle observée lors des expériences *in vivo* RATD. En revanche, le monoterpène p-cymène est davantage relargués sur purée (avec/sans salive) que sur cubes (avec/sans salive).

Tableau 21. Impact de la salive humaine sur la libération *in vitro* des COVs des produits de mangue frais et séchés de l'étude par P&T/GC-MS

Composés	Quantité moyenne de COVs extraits (µg/kg de MS) ^b							
	Produits de mangue frais				Produits de mangue séchés			
	Cubes	Cubes + Salive	Purée	Purée + Salive	Cubes	Cubes + Salive	Poudre	Poudre + Salive
α-pinène	8.4 a	10.8 a	9.5 a	9.6 a	16.5 b	2.8 ab	0.4 a	0.4 a
camphène	0.1 a	0.2 a	0.2 a	0.2 a	0.4 b	< 0.1 ab	< 0.1 a	< 0.1 a
α-fenchène ^(SQ)	0.1 a	0.1 a	0.1 a	0.1 a	0.1 b	< 0.1 ab	< 0.1 a	< 0.1 a
β-pinène	0.6 a	0.7 a	1.4 a	0.8 a	0.6 b	0.1 ab	< 0.1 a	< 0.1 a
β-myrcène	21.1 a	27.9 a	24.8 a	25.9 a	46.1 b	7.8 ab	0.9 a	1.2 a
δ-3-carène [†] & α-phellandrene [†]	190.3 a	247.8 a	212.1 a	218.4 a	374.2 b	94 ab	14.8 a	18.9 a
α-terpinène	2.6 a	3.4 a	1.5 a	1.6 a	7.5 b	0.9 ab	0.1 a	0.1 a
Limonène	14.5 a	18.7 a	19.5 a	20.1 a	39.7 b	5.6 ab	1 a	1.2 a
Sylvestrène ^(SQ)	0.4 a	0.4 a	0.5 a	0.5 a	1.4 b	0.2 ab	< 0.1 a	< 0.1 a
β-phellandrene ^(SQ)	0.9 a	1.2 a	1 a	1 a	1.5 b	0.3 ab	< 0.1 a	0.1 a
p-cymène	4.6 a	5 a	9.8 b	9 b	24.7 b	3 ab	0.7 a	0.7 a
β-ocimène	1.4 a	2 a	1.4 a	1.5 a	3 b	0.5 ab	< 0.1 a	< 0.1 a
γ-terpinène	0.8 a	1.1 a	0.8 a	0.8 a	3.3 b	0.3 ab	< 0.1 a	0.1 a
Monoterpène inconnu ^(SQ)	0.5 a	0.6 a	0.5 a	0.5 a	1 b	0.1 ab	< 0.1 a	< 0.1 a
α-terpinolène	21.9 a	29 a	20.7 a	22.1 a	54.9 b	7.7 ab	1.3 a	1.5 a
Butanoate de 3-méthylbutyle	-	-	-	-	3.2 b	2.4 b	0.8 a	1.1 a
p-cymène ^(SQ)	0.4 a	0.5 a	0.7 a	0.6 a	1.2 b	0.2 ab	0.1 a	0.1 a
α-gurjunène	5.5 b	6.4 b	1.6 a	1.8 a	1.0 b	0.6 ab	0.3 a	0.3 a
β-caryophyllène	58.1 b	63.1 b	11.7 a	12 a	26.8 b	8.8 b	1.8 a	2 a
α-caryophyllène	21.5 b	22.7 b	4.6 a	4.6 a	11 b	3.7 b	0.7 a	0.8 a
Total des composés extraits	353.9 a	441.9 a	322.7 a	331.3 a	618.4 b	139.0 ab	23.0 a	28.3 a

Légende :

^aQuantité moyenne de COVs (en µg/kg de MS) extraits sur les 4 répétitions P&T avec tests non-paramétriques de Kruskal-Wallis et de comparaison par paire de Conover-Iman avec correction de Bonferroni et un risque α de 5%.

^(SQ) Composés semi-quantifiés (en µg équivalent d'α-cédrène /kg de MS).

[†]Les composés δ-3-carène et α-phellandrene sont coélués sur colonne DB-1701. Sur ce lot de produits mangue, la contribution d'α-phellandrene au signal GC-MS obtenu est négligeable (<1%) par rapport à celle du δ-3-carène d'après les résultats SAFE/GC-MS obtenus sur DB-WAX sur produits de mangue frais et séchés (cf. résultats SAFE/GC-MS, Partie 2, §4.4.3.b), p 168).

Pour les produits séchés, les observations sont similaires à celles des produits frais. En effet, les tests statistiques montrent que la salive n'a pas d'effet sur la libération des COVs des produits séchés (poudre/cubes), à l'inverse de la texture des produits qui a un impact significatif. Tous les COVs (17 monoterpènes, 3 sesquiterpènes, 1 ester) sont davantage relargués sur cubes que sur poudre. Cette tendance de libération *in vitro* suit celle décrite en *in vivo* RATD.

4.5.4. Conclusion sur l'impact de la salive humaine sur la libération des composés d'arôme de mangue

Les expériences *in vitro* menées en P&T sur produits de mangue, dans des conditions proches de celles menées en RATD *in vivo*, ont permis de démontrer que la salive humaine n'aurait pas d'influence sur la libération des COVs de mangue. Ainsi, l'hypothèse qui pourrait être émise est que la salive humaine des dégustateurs aurait joué un rôle non significatif dans les résultats *in vivo* RATD obtenus sur produits de mangue.

En revanche, pour la majorité des COVs, la texture du produit influence significativement leur libération en condition *in vitro*. Les produits structurés (cubes frais et séchés) relarguent davantage de COVs que les produits déstructurés (purée fraîche et poudre séchée) en P&T. Ainsi, la tendance de libération *in vitro* suit la tendance de libération *in vivo* des COVs, et ceci, en fonction de la forme structurée ou déstructurée des produits.

Ces résultats peuvent être toutefois discutés avec ceux de la littérature. L'impact de la salive peut être étudié soit en mode statique (SPME) ou bien dynamique (simulateur de mastication équipé de tubes Tenax ou SPME) avec de la salive humaine ou bien artificielle (Genovese, Piombino, *et al.*, 2009; Mehinagic, Prost, *et al.*, 2004; Muñoz-González, Feron, *et al.*, 2014; Van Ruth, Grossmann, *et al.*, 2001; Van Ruth & Roozen, 2000; Van Ruth, Roozen, *et al.*, 1995). Suivant la matrice d'étude, la nature des COVs, les méthodes d'extraction (statique/dynamique) et les protocoles d'extraction (procédure d'équilibre du système, procédure d'extraction, nature de la salive, etc.) utilisés, les résultats obtenus sur l'effet de la salive peuvent être homologues ou bien divergents (effet salting-in ou salting-out ou bien pas d'effet significatif).

L'impact de la salive sur la libération des COVs a principalement été étudié sur les esters, les alcools, les lactones, les aldéhydes et les cétones. Le peu de publications qui

mentionne l'impact de la salive sur les terpènes restent essentiellement axées sur le vin (vin réel/modèle, salive humaine/artificielle).

Ainsi, Muñoz-González, Feron, *et al.* (2014) ont démontré un effet salive (humaine/artificielle) en SPME *in vitro* (en mode statique et dynamique) sur la libération de 3 monoterpènes : l' α -pinène, le β -pinène et le limonène. Un effet salive a aussi été constaté sur des terpénols (α -terpinéol, β -citonellol, *cis*-géraniol, etc.) et des norisoprénoides (β -damascenone, α - et β -ionone) suivant le type de vin (blanc, rouge ou modèle). La salive a ici un effet rétention (salting-in) significatif sur ces terpènes. L'hypothèse des auteurs est que, les terpènes sont des molécules hydrophobes qui peuvent établir des interactions avec les polyphénols et les polysaccharides du vin, ou bien avec les protéines de la salive. Dans le même temps, Genovese, Piombino, *et al.* (2009) ont démontré en SPME *in vitro* dynamique sur vin blanc que la salive (humaine/artificielle) n'avait pas d'effet sur la β -damascenone et le β -ocimène.

Ainsi, malgré des méthodes *in vitro* et matrices d'étude comparables, ces divergences de résultats entre auteurs montrent bien toute la complexité de l'impact des facteurs mis en jeu tant d'un point de vue physiologie orale (salivation, mastication, respiration, etc.) que matrice alimentaire (nature/quantité des COVs, composés non-volatils, etc.) sur la libération des COVs. Chaque étude doit donc être analysée au cas par cas.

PARTIE 3 : La perception des composés d'arôme par analyse sensorielle

Suite aux travaux menés en RATD/GC-MS sur la libération *in vivo* des COVs, des analyses sensorielles ont également été conduites pour évaluer l'impact de la texture des produits de mangue frais et séchés de l'étude sur la perception aromatique des produits.

Ces analyses sensorielles ont été réalisées avec un panel de 10 sujets (6F/4H) dont 7 sujets du panel RATD (3F/4H, sujets J₁-J₇). L'odeur, la texture, les saveurs et l'arôme des produits d'étude ont été évalués suivant une liste de descripteurs imposés tirés de la littérature sur mangue (Ledeker, Chambers, *et al.*, 2012; Ledeker, Suwonsichon, *et al.*, 2014; Malundo, Baldwill, *et al.*, 1996; Malundo, Shewfelt, & Ware, 2001; Suwonsichon, Chambers Iv, *et al.*, 2012) et suivant une échelle de notation discrète de 0 à 10. Les produits frais ont été notés indépendamment des produits séchés. Ainsi, deux listes de descripteurs et échelles de notations ont été établies, une pour les produits frais et une pour les produits séchés. Les panélistes ont été entraînés sur 2 sessions avant de réaliser l'évaluation sensorielle des produits de mangue.

Les résultats obtenus en analyse sensorielle sur les produits de mangue frais et séchés de l'étude sont présentés dans la figure ci-contre (Figure 42), et également inclus et discutés dans l'article présenté précédemment (cf. Chapitre *Résultats & Discussion*, Partie 2, Article en projet §4.4.3, p 167).

Pour les produits frais, sur les 12 descripteurs sensoriels évalués, seulement 6 descripteurs présentent des différences significatives entre la purée fraîche et les cubes frais de mangue. Les notes olfactives des produits frais (*odeur globale* et *odeur fruitée*) sont similaires. Pour les descripteurs texturants, les sujets ont noté les cubes plus *fermes*, avec plus de *fibres* et de *particules* ressentis en bouche. Les saveurs *sucrée* et *acide* ont été perçues plus intensément sur la purée que sur les cubes. Enfin, les descripteurs aromatiques *mangue* et *épicé* ont été perçus davantage sur les cubes que sur la purée.

Au regard de la littérature sur mangue, les auteurs (Ledeker, Chambers, *et al.*, 2012) ont comparé les propriétés sensorielles de cubes de mangue frais et d'une purée fraîche flash-pasteurisée (85°C, 15s) issus d'un même lot de mangues Kent. Les morceaux de mangue avaient alors été rapportés comme plus *visqueux* et *fibreux* que la purée et avec un

arôme plus *fruité* que la purée. Ces résultats vont donc dans le sens de ceux observés expérimentalement dans ces travaux de thèse.

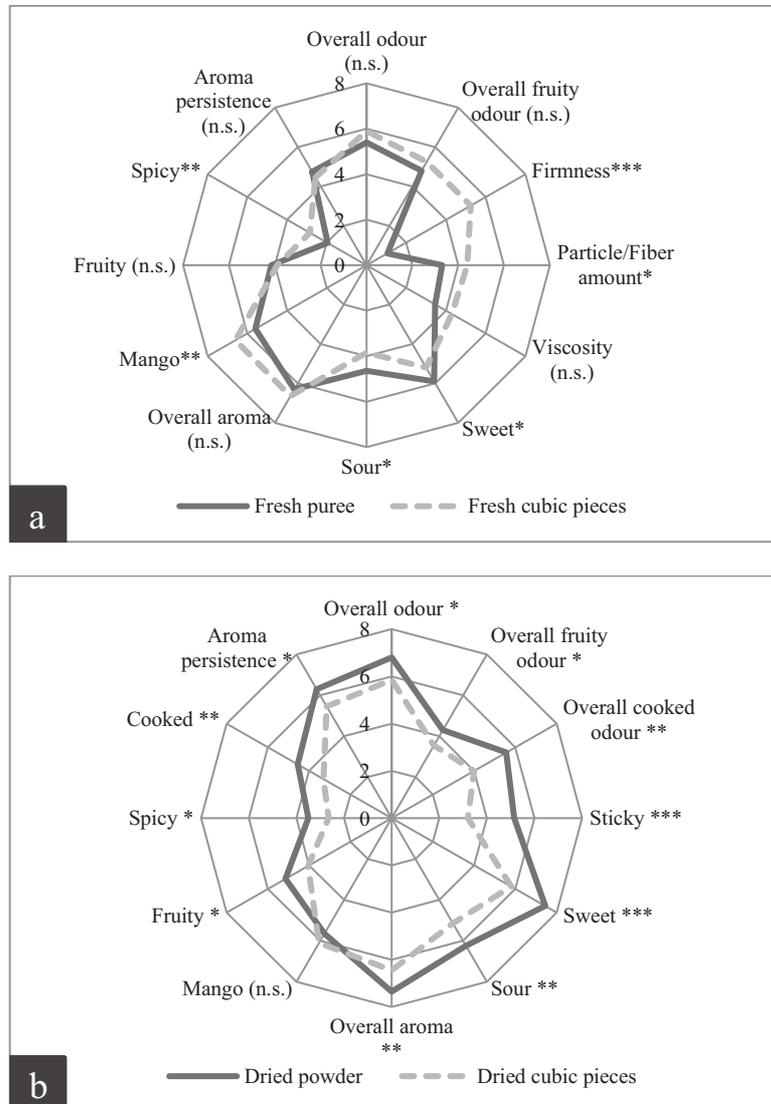


Fig. 7. Sensory analysis of mango samples: (a) fresh puree and fresh cubic pieces; (b) dried powder and dried cubic pieces. ANOVA with Tukey’s HSD : no significance (n.s.); significance *($\alpha < 5\%$); **($\alpha < 1\%$); ***($\alpha < 0.1\%$)

Figure 42. Analyses sensorielles réalisées sur (a) les produits de mangue frais et (b) les produits de mangue séchés de l’étude.

Source : Résultats extraits de l’article en projet présenté précédemment (cf. Chapitre *Résultats & Discussion*, Partie 2, Article en projet §4.4.3., p 167).

Pour les produits de mangue séchés, sur les 12 descripteurs sensoriels évalués, la poudre séchée a été notée significativement plus intense que les cubes séchés sur tous les descripteurs sensoriels excepté pour le descripteur aromatique *mangue* (non significatif). Ainsi, l'*odeur globale* et les notes olfactives *fruitée* et de *cuit*¹⁶ de la poudre séchée sont plus intenses que celles des cubes. D'un point de vue texture, la poudre a été notée plus *collante* que les cubes. Les *saveurs sucrée* et *acide* ont été perçues plus intensément sur la poudre que sur les cubes. Enfin, les descripteurs aromatiques *fruité*, *épicé* et *cuit*¹ ainsi que l'*arôme global* et sa *persistance en bouche* ont été notés plus élevés sur poudre séchée que sur cubes séchés. En comparaison avec la littérature, Sharma, Kadam, *et al.* (2013) ont étudié les propriétés sensorielles de différents jus de mangue reconstitués à base de poudres séchées de mangue de granulométries différentes. Il apparaît ainsi, dans ces travaux, que la granulométrie des poudres séchées impacte bien la flaveur finale des jus reconstitués.

Au vu des résultats obtenus sur produits frais et séchés de mangue, certaines conclusions peuvent être mises en avant quant à l'impact de la texture des produits de fruit sur la perception sensorielle globale des produits.

Les analyses sensorielles menées démontrent ainsi que la perception des saveurs sucrée et acide sont plus intenses sur les produits déstructurés (purée fraîche, poudre séchée) que structurés (cubes frais et séchés). Les saveurs acide et sucrée peuvent être corrélées aux données physicochimiques des produits (pH, acidité titrable AT, ratio °Bx/TA, °Bx, acides organiques, glucides, etc). Dans le cas des fruits (banane, pomme, mangue, kiwi, etc.), la saveur acide peut être corrélée au pH, à l'AT et au ratio °Bx/AT, quant à la saveur sucrée, celle-ci est peu corrélée au °Bx mais elle peut être corrélée à d'autres facteurs suivant le fruit considéré (AT, descripteurs aromatiques, composé d'arôme, etc.), (Harker, Marsh, *et al.*, 2002; Malundo, Shewfelt, Ware, *et al.*, 2001; Marsh, Friel, *et al.*, 2005). Les propriétés physicochimiques des produits de mangue frais d'une part, et des produits séchés d'autre part, étant comparables (même °Bx, pH, AT), la différence de perception des saveurs sucrée et acide entre produits structuré/déstructuré est donc bien due à l'état textural des produits. L'hypothèse qui peut être émise est que, dans le cas des produits déstructurés, la surface de contact entre la langue et la matrice de fruit est plus importante qu'avec des produits structurés. Ainsi la stimulation des bourgeons du goût par des tastants serait donc plus importante sur produits déstructurés.

¹⁶ Note olfactive/aromatique de cuit : note de caramel, ou de fruits cuits, caramélisés, séchés ou confits

Pour ce qui est de la perception aromatique des produits de mangue frais et séchés, celle-ci n'est pas fonction de l'état structuré ou déstructuré du produit de mangue, mais plutôt à l'état frais ou séché du produit. En effet, dans le cas des produits frais, le produit structuré (cubes) est plus aromatique que le produit déstructuré (purée) avec des notes *mangue* et *épicée* plus intenses sur cubes que sur purée. À l'inverse, pour les produits séchés, le produit déstructuré (poudre) est plus aromatique que le produit structuré (cubes) avec un *arôme global* et des notes *fruitée*, *épicée* et de *cuit*¹⁷ plus intense sur poudre que sur cubes. Ainsi, l'état textural des produits de mangue n'apparaît pas comme étant le facteur le plus déterminant dans la perception aromatique des COVs. Dans le même sens, les travaux menés par Poinot, Arvisenet, *et al.* (2011) ont ainsi démontré que sur différents cultivars de pommes, la perception globale de la flaveur des fruits est avant tout impactée par les saveurs, suivies dans un second temps de la texture et de l'arôme. Les produits séchés étant bien plus sucrés (environ 80°Bx) et un peu plus acides que les produits frais, l'hypothèse qui pourrait être émise est que, la teneur en glucides et acides organiques présente dans les produits séchés serait telle qu'elle puisse jouer un rôle important dans la perception des saveurs et impacter ainsi la perception aromatique des COVs. La poudre séchée étant notée plus sucrée et acide que les cubes, ceci pourrait alors expliquer que la perception des notes aromatiques (*arôme global*, *fruitée*, *épicée*, *cuit*¹) soient plus intenses sur poudre séchée que sur cubes.

Avec l'étude faite sur le profil aromatique des produits de mangue par SAFE/GC-MS, il est possible d'émettre l'hypothèse que les COVs dont l'OAV est supérieure à 1 puissent contribuer aux descripteurs aromatiques utilisés en analyse sensorielle pour décrire les produits de mangue. D'autres COVs également reportés dans la littérature comme étant importants dans l'arôme de mangue (OAV et FD élevés), peuvent aussi participer aux descripteurs aromatiques des produits de mangue. Ainsi, les composés terpéniques α -pinène, δ -3-carène, α -phellandrène, β -myrcène, limonène, β -ocimène, p-cymène, α -terpinolène et camphène peuvent contribuer à développer des notes citrus, vertes, térébenthine et boisées typiques de l'arôme de mangue. Les composés α -phellandrène, p-cymène et β -caryophyllène peuvent, quant à eux, développer des notes épicées. Le butanoate de 3-méthylbutyle peut contribuer aux notes fruitées ; le pent-1-ène-3-ol, hexanal et nonanal à des notes grasses, rances et beurrées ; le (*E*)-non-2-éanal, (*E,Z*)-nona-2,6-diéanal et heptanal à des notes vertes et grasses ; enfin la γ -butyrolactone, δ -octalactone et γ -octalactone à des notes grillées et de

¹⁷ Note olfactive/aromatique de cuit : note de caramel, ou de fruits cuits, caramélisés, séchés ou confits

caramel. À l'image des travaux de Munafo, Didzbalis, *et al.* (2016) sur mangue, une étude de reconstitution de l'arôme des produits de mangue pourrait être envisagée afin d'évaluer l'impact des 20 COVs cités précédemment sur les descripteurs aromatiques utilisés en analyse sensorielle.

À l'issue des travaux réalisés en analyse sensorielle, il apparaît clairement que la perception aromatique des COVs des produits de mangue est le résultat de la contribution de différents stimuli sensoriels faisant intervenir à la fois les composés aromatiques (nature et quantité des COVs), la texture et la saveur des produits.

5. Conclusion générale et Perspectives

5. Conclusion générale et Perspectives

Pour l'ensemble des études *in vivo* et *in vitro* réalisées au cours de ces travaux de thèse, les 4 produits de mangue de l'étude ont été élaborés à partir d'un lot de mangues Kent homogène. Dans ces conditions, deux produits frais (purée fraîche, cubes frais) comparables d'un point de vue aromatique et physicochimique, mais différents d'un point de vue texture, ont ainsi été confectionnés et comparés ensemble tout au long de l'étude de thèse. Il en va de même pour les deux produits séchés de l'étude, (poudre séchée, cubes séchés).

La technique SAFE/GC-MS mise en place a permis d'étudier le potentiel aromatique des produits de mangue frais (cubes, purée) et séchés (cubes, poudre). Il apparaît que les composés terpéniques sont de loin les COVs les plus abondants du profil aromatique des produits de mangue suivis des alcools et des lactones. Les différences aromatiques entre les produits frais et séchés de mangue ont permis de comprendre l'impact du procédé de séchage sur le profil aromatique de la mangue fraîche (Bonneau, Boulanger, *et al.*, 2016). Il apparaît ainsi qu'une perte importante de COVs est induite au cours du séchage en même temps que la production et l'apparition de nouveaux composés. Le calcul expérimental des OAVs et les données de la littérature sur l'arôme de mangue ont permis de mettre en évidence les COVs potentiellement importants dans l'arôme des produits de mangue frais et séchés.

Pour étudier la libération *in vivo* des COVs, le choix d'une technique de piégeage a été préféré à un suivi *in vivo* des COVs en temps réel (PTR-MS). En effet, les produits de mangue présentent de nombreux composés terpéniques, de masses moléculaires identiques, importants dans l'arôme de mangue et qu'il aurait été délicat d'identifier et de suivre en PTR-MS. Les techniques *in vivo* de piégeage SPME et RATD mentionnées dans la littérature (Munoz-Gonzalez, Martin-Alvarez, *et al.*, 2014b; Pionnier, Sémon, *et al.*, 2005) ont toutes deux été testées car elles conduisent à une meilleure identification des COVs grâce à l'analyse GC-MS en mode EI. Seule la technique RATD a permis de mettre au point un protocole satisfaisant et exploitable permettant un suivi *in vivo* de la libération des COVs. L'originalité du protocole *in vivo* mis en place dans ces travaux de thèse réside dans le fait que la technique RATD a été associée à un protocole de dégustation imposé grâce à l'utilisation d'une animation visuelle. Cette animation a permis de standardiser au mieux les

cycles de respiration, mastication et déglutition des sujets ainsi que le temps de consommation des produits d'étude (temps de dégustation identique pour chaque produit). Un temps de repos et un rinçage de la cavité orale des sujets ont également été respectés entre chaque dégustation produit. Toutes ces précautions prises ont permis de rendre comparable la libération *in vivo* des COVs sur chaque sujet, chaque produit et chaque dégustation (répétition). De nombreux tests d'optimisation et de validation de protocole ont également été menés pour parfaire le protocole *in vivo*. Ainsi, les variabilités physiologiques orales intra- et inter-individuelles, ainsi que les variabilités autres (matériel, protocole d'extraction, etc.) ont ainsi été limitées pour observer au mieux l'impact de la texture des produits de mangue sur la libération *in vivo* des COVs.

Il apparaît ainsi que sur les 50 COVs identifiés en SAFE/GC-MS sur les produits de mangue, seuls les composés terpéniques (17 monoterpènes et 3 sesquiterpènes) et un ester dans le cas des produits séchés (butanoate de 3-méthylbutyle) sont observés en *in vivo* RATD/GC-MS. Au cours de la dégustation *in vivo* des produits de mangue, ces composés sont significativement plus libérés sur les produits structurés (cubes frais et séchés) que sur les produits déstructurés (purée fraîche, poudre séchée). Les travaux précédemment menés sur fruits ou fruits modèles, bien que discutables et différents d'un point de vue protocole et précautions adoptés (protocoles de dégustation libre/imposé, produits plus ou moins similaires d'un point de vue aromatique/matriciel, etc.) viennent étayer ces 1^{ères} conclusions expérimentales *in vivo* (Boland, Delahunty, *et al.*, 2006; Frank, Eyres, *et al.*, 2012; Ting, Romano, *et al.*, 2016).

Ces 1^{ers} résultats *in vivo* ont suggéré une hypothèse quant à l'impact potentiel de la salive humaine dans le processus de libération rétronasale des COVs des produits de mangue. L'hypothèse posée étant que la salive aurait un effet rétention sur les COVs plus importante dans le cas des produits déstructurés, que dans le cas des produits structurés. Une étude a donc été menée sur la libération *in vitro* des COVs par extraction P&T avec la salive des panélistes RATD. Les expériences *in vitro* ont permis de montrer que la salive humaine n'aurait pas d'influence sur la libération *in vivo* des COVs sur les produits de mangue. De plus, la libération *in vitro* des COVs en P&T est en accord avec les résultats obtenus sur libération *in vivo* des COVs en RATD. En effet, les COVs sont significativement plus libérés sur produit structuré que déstructuré. Ainsi, seul l'état textural (structuré/déstructuré) des produits de mangue aurait joué un rôle significatif dans les résultats obtenus en RATD *in vivo*. Une 1^{ère} perspective d'étude à envisager, pour compléter ces 1^{ers} résultats *in vitro*,

serait d'utiliser un simulateur de dégustation plus complet (mastication, respiration, salivation et déglutition simulées en *in vitro*) afin d'évaluer l'effet de la salive associé aux autres facteurs physiologiques sur la rétention ou relargage des COVs des produits de mangue.

Dans un dernier temps, des analyses sensorielles ont été conduites sur les produits de mangue de l'étude afin d'évaluer l'impact de la texture sur les propriétés organoleptiques des produits, et plus spécifiquement sur la perception aromatique des COVs. La confrontation des résultats obtenus sur la libération *in vivo* des COVs par RATD/GC-MS et sur la perception aromatique des COVs par analyse sensorielle ont permis de conclure à des observations intéressantes. Pour les produits frais, la libération *in vivo* des COVs est en accord avec les résultats d'analyse sensorielle sur la perception aromatique des COVs. En effet, sur les 20 COVs extraits en RATD/GC-MS sur produits frais, 17 COVs (14 monoterpènes et 3 sesquiterpènes) sont significativement plus libérés sur cubes que sur purée, et dans le même sens, les cubes sont notés plus intenses sur les descripteurs aromatiques *mangue* et *épicé* que la purée. À l'inverse, pour les produits séchés, les résultats de libération *in vivo* des COVs et les résultats de perception aromatique des COVs sont divergents. En effet, sur les 21 COVs extraits en RATD/GC-MS sur produits séchés, 12 COVs (11 monoterpènes et 1 sesquiterpène) sont significativement plus libérés sur cubes que sur poudre, mais à l'inverse, la poudre est perçue avec des notes aromatiques *fruitée*, *épicée* et *cuit* plus intenses que sur cubes. De même l'*arôme global* et la *persistance en bouche* de ce dernier est plus important sur poudre que sur cubes. Cette comparaison des résultats de libération *in vivo* et de perception aromatique des COVs permet de mettre en avant que la libération *in vivo* des COVs ne permet pas toujours de prédire la perception aromatique des produits. Les auteurs Boland, Delahunty, *et al.* (2006) ont conclu aux mêmes résultats sur gels pectiques aromatisés en analyse par PTR-MS. En effet, les gels fermes libèrent plus de COVs que des gels homologues plus souples alors qu'à l'inverse, la perception de l'arôme est perçue plus intensément sur les gels souples que sur les gels fermes.

Ces divergences de résultats entre libération *in vivo* et perception aromatique des COVs peuvent susciter quelques hypothèses. Tout d'abord par interactions cognitives, la perception aromatique des COVs peut être influencée par de multiples facteurs tels que les saveurs, exhausteurs d'arôme. Dans le cas des produits séchés, les saveurs sucrée et acide sont plus perçues sur poudre que sur cubes, ceci peut éventuellement expliquer que la poudre soit perçue comme étant plus aromatique que les cubes. Les auteurs Boland, Delahunty, *et al.* (2006) avaient fait également la même hypothèse sur des gels pectiques : les gels souples

étaient perçus comme plus sucrés et plus aromatiques que les gels fermes alors que l'arôme et la teneur en sucre étaient identiques entre les gels. Une autre hypothèse est que, le protocole de dégustation utilisé en analyse sensorielle était libre au contraire du protocole strict imposé en RATD/GC-MS. La dégustation faite en analyse sensorielle n'était donc peut-être pas assez représentative des résultats obtenus en RATD/GC-MS. Enfin, une dernière hypothèse plausible est que les techniques *in vivo* de suivi en temps réel (PTR/API-MS) ou de piégeage (SPME *in vivo*, RATD) des COVs ne tiennent compte que des molécules expirées en excédant dans les effluves nasales des sujets. Ainsi, il n'est pas exclu que d'autres molécules en quantités traces aient bien été libérées, expirées et perçues par les sujets en analyse sensorielle. Autrement dit, il est probable que sur l'ensemble des autres molécules constituant le profil aromatique des produits de mangue, certaines ont bien été libérées en *in vivo* et perçues par les sujets en analyse sensorielle, contribuant ainsi à la perception aromatique globale des produits, mais pour autant celles-ci n'ont pas été détectées en RATD/GC-MS. Ceci a pu également contribuer aux divergences de résultats obtenus entre libération *in vivo* et perception aromatique des COVs.

En conclusion, la stratégie d'étude adoptée et l'ensemble des outils et techniques mis en place ont permis d'aboutir à de nouvelles données scientifiques intéressantes quant à l'impact de la texture des fruits sur la libération *in vivo* et la perception aromatique des COVs de produits frais et séchés de mangue. La texture impacte significativement la libération *in vivo* des COVs en fonction de l'état textural des produits. En revanche, la perception aromatique des COVs est la résultante de multiples facteurs dont la texture n'est pas le facteur le plus impactant. Toujours est-il que pour comprendre le processus de perception rétronasale dans sa globalité, il est essentiel de coupler une étude de libération *in vivo* des COVs à une étude sensorielle de la perception aromatique des COVs.

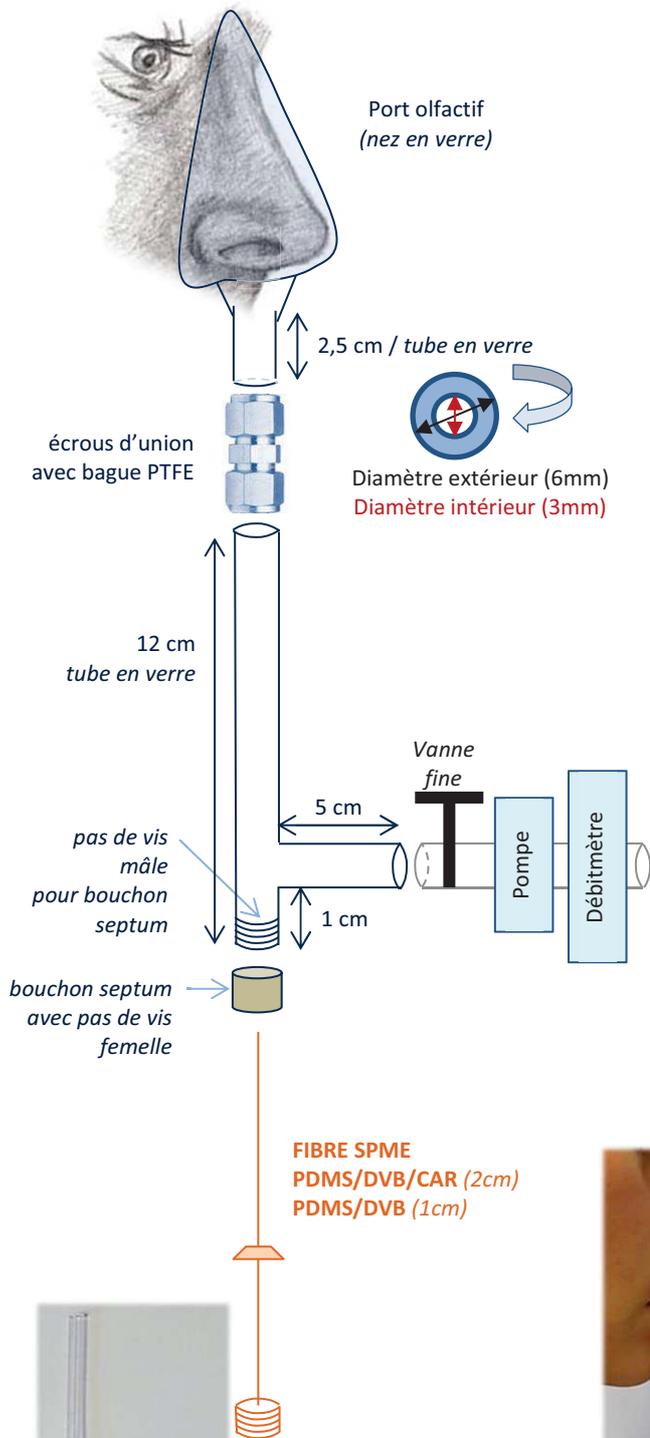
En perspective, il serait intéressant de pouvoir établir des relations entre les COVs libérés en *in vivo* RATD/GC-MS et les descripteurs aromatiques générés par un panel d'expert en analyse sensorielle lors de la dégustation des produits de mangue. Pour ce faire, des matrices modèles de mangue peuvent être élaborées à l'aide de pectines isolées de mangues et des COVs clés de l'arôme de mangue (OAV et FD important) reportés dans la littérature (Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2014; Munafo, Didzbalis, *et al.*, 2016; Pino, 2012; Pino & Mesa, 2006).

De plus, la stratégie d'étude adoptée et les méthodes et outils mis en place (SAFE/GC-MS, RATD/GC-MS associé à un protocole de dégustation imposé, analyse sensorielle) peuvent très bien être réutilisés pour des applications plus technologiques en industries agroalimentaires. En effet, à l'image des travaux de Sharma, Kadam, *et al.* (2013), (impact de la granulométrie de poudres de mangue séchée sur la flaveur de jus de mangue reconstitué à partir de ces poudres), le choix de la dimension des cubes de fruits dans des desserts (yaourt, gâteau, salades de fruits, etc.), ou encore le choix de la granulométrie d'une purée pourraient très bien faire l'objet de nouvelles études scientifiques en vue d'améliorer la formulation de certains produits ou bien améliorer certains procédés de transformations sur fruits. La stratégie d'étude de thèse permettrait ainsi d'étudier l'impact textural des fruits et/ou de certains procédés de transformation sur la qualité finale des produits et de pouvoir l'expliquer à l'échelle des COVs émis en libération *in vivo*.

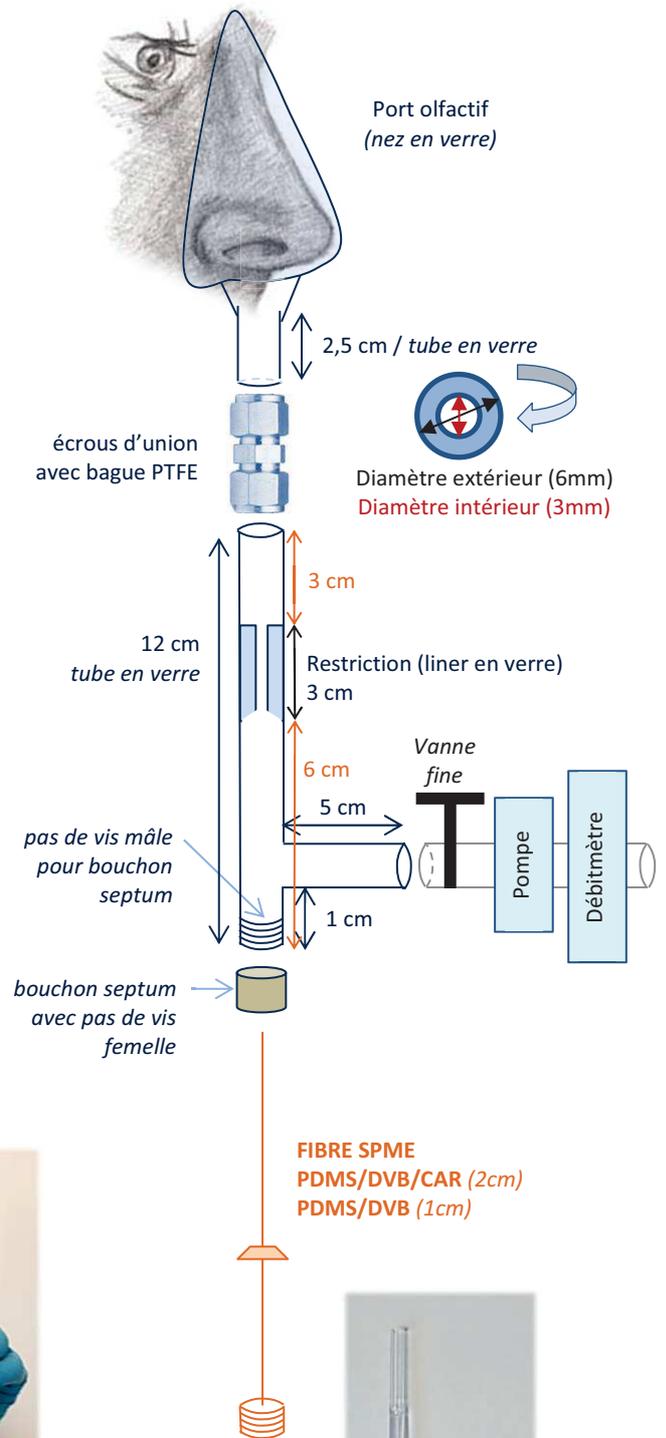
Annexes

Annexe 1. Les montages SPME *in vivo* pour l'étude de de la libération des composés d'arôme au cours de la consommation des produits de mangue.

Le montage SPME *in vivo* en « T »

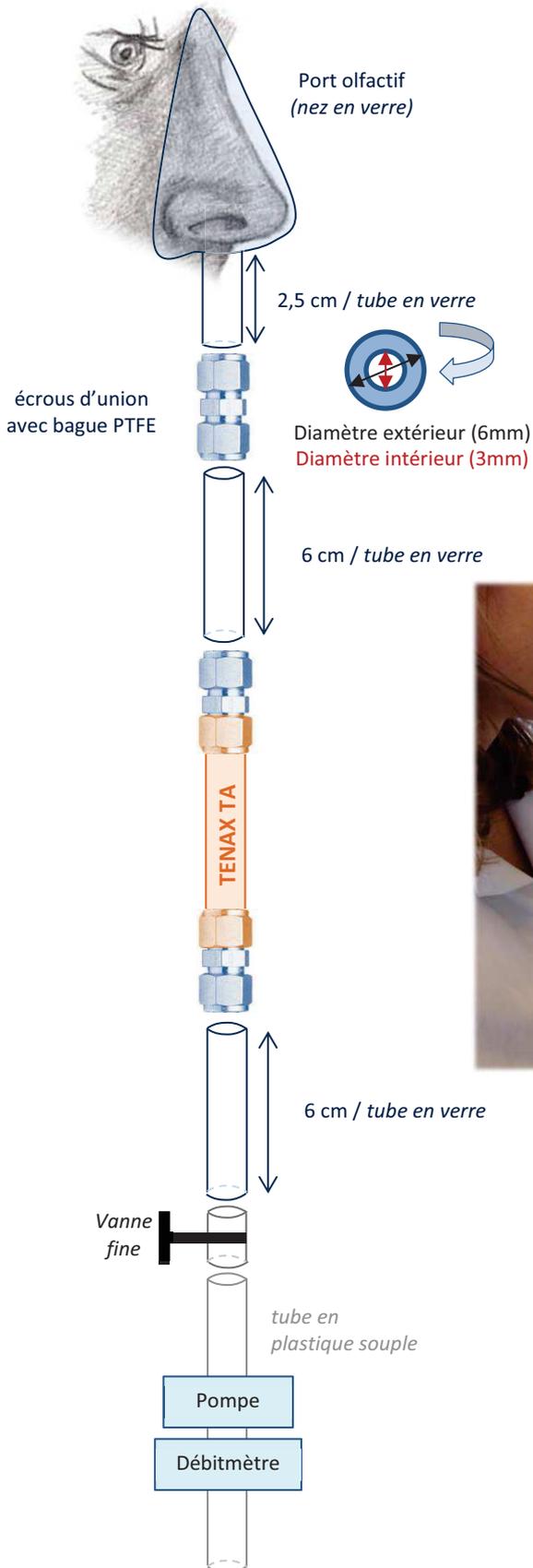


Le montage SPME *in vivo* en « T » avec restriction

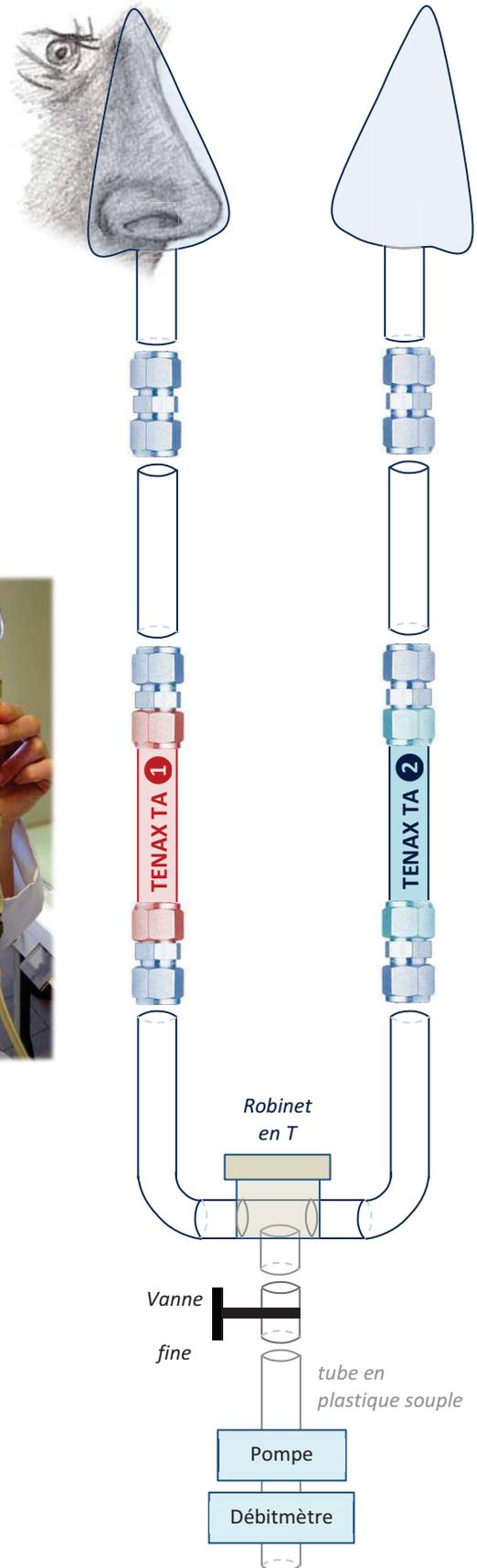


Annexe 2. Les montages RATD pour l'étude de de la libération *in vivo* des composés d'arôme au cours de la consommation des produits de mangue.

**Le montage RATD simple
(1 tube d'extraction)**



**Le montage RATD double
(2 tubes d'extraction)**



Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Adedeji, J., Hartman, T. G., Lech, J., & Ho, C. T. (1992). Characterization of Glycosidically Bound Aroma Compounds in the African Mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(4), 659-661.
- AOAC. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International, *Association of Official Analytical Chemists, Inc.* pp 912-914.
- Apréa, E., Biasioli, F., Gasperi, F., Märk, T. D., & van Ruth, S. (2006). In vivo monitoring of strawberry flavour release from model custards: effect of texture and oral processing. *Flavour and Fragrance Journal*, 21(1), 53-58.
- Arvisenet, G., Billy, L., Poinot, P., Vigneau, E., Bertrand, D., & Prost, C. (2008). Effect of apple particle state on the release of volatile compounds in a new artificial mouth device. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(9), 3245-3253.
- Arvisenet, G., Billy, L., Royer, G., & Prost, C. (2006). Role of mastication on the release of apple volatile compounds in a model mouth system. *Developments in Food Science*, 43, 465-468.
- Augustyn, W. A., Botha, B. M., Combrinck, S., Maree, J. E., & du Plooy, G. W. (2010). Effect of secondary metabolites on gall fly infestation of mango leaves. *Flavour and Fragrance Journal*, 25(4), 223-229.
- Baldermann, S., Naim, M., & Fleischmann, P. (2005). Enzymatic carotenoid degradation and aroma formation in nectarines (*Prunus persica*). *Food Research International*, 38(8-9), 833-836.
- Baldwin, E. A., Goodner, K., & Plotto, A. (2008). Interaction of Volatiles, Sugars, and Acids on Perception of Tomato Aroma and Flavor Descriptors. *Journal of Food Science*, 73(6), S294-S307.
- Beaulieu, J. C., & Lea, J. M. (2003). Volatile and quality changes in fresh-cut mangos prepared from firm-ripe and soft-ripe fruit, stored in clamshell containers and passive MAP. *Postharvest Biology and Technology*, 30(1), 15-28.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009a). Aroma Compounds, *Food Chemistry*. Springer, *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*. pp 340-402.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009b). Lipids, *Food Chemistry*. Springer, *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*. pp 1070.
- Bender, R., Brecht, J., Baldwin, E., & Malundo, T. (2000). Aroma Volatiles of Mature-green and Tree-ripe 'Tommy Atkins' Mangoes after Controlled Atmosphere vs. Air Storage. *HortScience*, 35(4), 684-686.
- Benjamin, O., Silcock, P., Kieser, J. A., Waddell, J. N., Swain, M. V., & Everett, D. W. (2012). Development of a model mouth containing an artificial tongue to measure the release of volatile compounds. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 15, 96-103.

- Berardini, N., Knödler, M., Schieber, A., & Carle, R. (2005). Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(4), 442-452.
- Biasioli, F., Gasperi, F., Yeretdzian, C., & Märk, T. D. (2011). PTR-MS monitoring of VOCs and BVOCs in food science and technology. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(7), 968-977.
- Boland, A. B., Buhr, K., Giannouli, P., & van Ruth, S. M. (2004). Influence of gelatin, starch, pectin and artificial saliva on the release of 11 flavour compounds from model gel systems. *Food Chemistry*, 86(3), 401-411.
- Boland, A. B., Delahunty, C. M., & van Ruth, S. M. (2006). Influence of the texture of gelatin gels and pectin gels on strawberry flavour release and perception. *Food Chemistry*, 96(3), 452-460.
- Bonneau, A., Boulanger, R., Lebrun, M., Maraval, I., & Gunata, Z. (2016). Aroma compounds in fresh and dried mango fruit (*Mangifera indica* L. cv. Kent): impact of drying on volatile composition. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(3), 789-800.
- Boonbumrung, S., Tamura, H., Mookdasanit, J., Nakamoto, H., Ishihara, M., Yoshizawa, T., & Varayanond, W. (2001). Characteristic Aroma Components of the Volatile Oil of Yellow Keaw Mango Fruits Determined by Limited Odor Unit Method. *Food Science and Technology Research*, 7(3), 200-206.
- Buettner, A. (2002a). Influence of Human Saliva on Odorant Concentrations. 2. Aldehydes, Alcohols, 3-Alkyl-2-methoxypyrazines, Methoxyphenols, and 3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(24), 7105-7110.
- Buettner, A. (2002b). Influence of Human Salivary Enzymes on Odorant Concentration Changes Occurring in Vivo. 1. Esters and Thiols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(11), 3283-3289.
- Buettner, A., & Beauchamp, J. (2010). Chemical input – Sensory output: Diverse modes of physiology–flavour interaction. *Food Quality and Preference*, 21(8), 915-924.
- Buettner, A., & Schieberle, P. (2000a). Exhaled Odorant Measurement (EXOM) — A New Approach to Quantify the Degree of In-mouth Release of Food Aroma Compounds. *LWT - Food Science and Technology*, 33(8), 553-559.
- Buettner, A., & Schieberle, P. (2000b). Influence of mastication on the concentrations of aroma volatiles — some aspects of flavour release and flavour perception. *Food Chemistry*, 71(3), 347-354.
- Buettner, A., & Schieberle, P. (2001). Evaluation of aroma differences between hand-squeezed juices from Valencia late and Navel oranges by quantitation of key odorants and flavor reconstitution experiments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2387-2394.
- Camps, C., & Christen, D. (2009). Non-destructive assessment of apricot fruit quality by portable visible-near infrared spectroscopy. *LWT-Food Science and Technology*, 42(6), 1125-1131.

- Cappellin, L., Biasioli, F., Fabris, A., Schuhfried, E., Soukoulis, C., Märk, T. D., & Gasperi, F. (2010). Improved mass accuracy in PTR-TOF-MS: Another step towards better compound identification in PTR-MS. *International Journal of Mass Spectrometry*, 290(1), 60-63.
- Castro-Vazquez, L., Diaz-Maroto, M. C., & Perez-Coello, M. S. (2006). Volatile composition and contribution to the aroma of spanish honeydew honeys. Identification of a new chemical marker. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(13), 4809-4813.
- Cosse, A. A., Todd, J. L., Millar, J. G., Martinez, L. A., & Baker, T. C. (1995). Electroantennographic and coupled gas chromatographic-electroantennographic responses of the mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*, to male-produced volatiles and mango odor. *Journal of Chemical Ecology*, 21(11), 1823-1836.
- d'Acampora Zellner, B., Dugo, P., Dugo, G., & Mondello, L. (2008). Gas chromatography-olfactometry in food flavour analysis. *J Chromatogr A*, 1186(1-2), 123-143.
- Delahunty, C. M., Eyres, G., & Dufour, J.-P. (2006). Gas chromatography-olfactometry. *Journal of Separation Science*, 29(14), 2107-2125.
- Delahunty, C. M., Piggott, J. R., Conner, J. M., & Paterson, A. (1996). Comparison of dynamic flavour release from hard cheeses and analysis of headspace volatiles from the mouth with flavour perception during consumption. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 71(3), 273-281.
- Delwiche, J. (2004). The impact of perceptual interactions on perceived flavor. *Food Quality and Preference*, 15(2), 137-146.
- Dick, E., N'DaAdopo, A., Camara, B., & Moudioh, E. (2009). Influence of maturity stage of mango at harvest on its ripening quality. *Fruits*, 64(1), 13-18.
- Djordjevic, J., Zatorre, R. J., & Jones-Gotman, M. (2004). Effects of perceived and imagined odors on taste detection. *Chemical Senses*, 29(3), 199-208.
- Doyennette, M., Déléris, I., Saint-Eve, A., Gasiglia, A., Souchon, I., & Trelea, I. C. (2011). The dynamics of aroma compound transfer properties in cheeses during simulated eating conditions. *Food Research International*, 44(10), 3174-3181.
- Drago, S. R., Panouillé, M., Saint-Eve, A., Neyraud, E., Feron, G., & Souchon, I. (2011). Relationships between saliva and food bolus properties from model dairy products. *Food Hydrocolloids*, 25(4), 659-667.
- Du, X., Finn, C. E., & Qian, M. C. (2010). Volatile composition and odour-activity value of thornless 'Black Diamond' and 'Marion' blackberries. *Food Chemistry*, 119(3), 1127-1134.
- Dubey, V. S., Bhalla, R., & Luthra, R. (2003). An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. *Journal of Biosciences*, 28(5), 637-646.
- El-Nemr, S. E., Ismail, I. A., & Askar, A. (1988). Aroma changes in mango juice during processing and storage. *Food Chemistry*, 30(4), 269-275.
- Engel, W., Bahr, W., & Schieberle, P. (1999). Solvent assisted flavour evaporation - a new and versatile technique for the careful and direct isolation of aroma compounds from complex food matrices. *European Food Research and Technology*, 209(3-4), 237-241.

- Engelen, L., de Wijk, R. A., Prinz, J. F., van der Bilt, A., & Bosman, F. (2003). The relation between saliva flow after different stimulations and the perception of flavor and texture attributes in custard desserts. *Physiology & Behavior*, 78(1), 165-169.
- Feron, G., Ayed, C., Qannari, E. M., Courcoux, P., Laboure, H., & Guichard, E. (2014). Understanding aroma release from model cheeses by a statistical multiblock approach on oral processing. *PloS one*, 9(4), e93113.
- Ferreira, V., López, R., & Cacho, J. F. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(11), 1659-1667.
- Flavornet (2004). <http://www.flavornet.org/flavornet.html>, Accessed August 2016.
- Fleischmann, P., Watanabe, N., & Winterhalter, P. (2003). Enzymatic carotenoid cleavage in star fruit (*Averrhoa carambola*). *Phytochemistry*, 63(2), 131-137.
- Frank, D., Appelqvist, I., Piyasiri, U., Wooster, T. J., & Delahunty, C. (2011). Proton transfer reaction mass spectrometry and time intensity perceptual measurement of flavor release from lipid emulsions using trained human subjects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(9), 4891-4903.
- Frank, D., Eyres, G. T., Piyasiri, U., & Delahunty, C. M. (2012). Effect of food matrix structure and composition on aroma release during oral processing using in vivo monitoring. *Flavour and Fragrance Journal*, 27(6), 433-444.
- Friel, E. N., Wang, M., Taylor, A. J., & Macrae, E. A. (2007). In vitro and in vivo release of aroma compounds from yellow-fleshed kiwifruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(16), 6664-6673.
- Genovese, A., Piombino, P., Gambuti, A., & Moio, L. (2009). Simulation of retronasal aroma of white and red wine in a model mouth system. Investigating the influence of saliva on volatile compound concentrations. *Food Chemistry*, 114(1), 100-107.
- Gierczynski, I., Laboure, H., & Guichard, E. (2008). In vivo aroma release of milk gels of different hardnesses: Inter-individual differences and their consequences on aroma perception. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(5), 1697-1703.
- Gierczynski, I., Labouré, H., Sémon, E., & Guichard, E. (2007). Impact of hardness of model fresh cheese on aroma release: in vivo and in vitro study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(8), 3066-3073.
- Goubet, I., Le Quere, J.-L., & Voilley, A. (1998). Retention of aroma compounds by carbohydrates: influence of their physicochemical characteristics and of their physical state. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1981-1990.
- Greger, V., & Schieberle, P. (2007). Characterization of the key aroma compounds in apricots (*Prunus armeniaca*) by application of the molecular sensory science concept. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(13), 5221-5228.
- Guichard, E. (2002). Interactions between flavor compounds and food ingredients and their influence on flavor perception. *Food Reviews International*, 18(1), 49-70.
- Hansson, A., Andersson, J., & Leufven, A. (2001). The effect of sugars and pectin on flavour release from a soft drink-related model system. *Food Chemistry*, 72(3), 363-368.

- Hansson, A., Giannouli, P., & van Ruth, S. (2003). The influence of gel strength on aroma release from pectin gels in a model mouth and in vivo, monitored with proton-transfer-reaction mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4732-4740.
- Harker, F. R., Marsh, K. B., Young, H., Murray, S. H., Gunson, F. A., & Walker, S. B. (2002). Sensory interpretation of instrumental measurements 2: sweet and acid taste of apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 24(3), 241-250.
- Heenan, S., Soukoulis, C., Silcock, P., Fabris, A., Aprea, E., Cappellin, L., Märk, T. D., Gasperi, F., & Biasioli, F. (2012). PTR-TOF-MS monitoring of in vitro and in vivo flavour release in cereal bars with varying sugar composition. *Food Chemistry*, 131(2), 477-484.
- Ibáñez, E., López-Sebastián, S., Ramos, E., Tabera, J., & Reglero, G. (1998). Analysis of volatile fruit components by headspace solid-phase microextraction. *Food Chemistry*, 63(2), 281-286.
- Ignacio, S. S. A., Santiesteban Hernández; German, Velásquez Valdez; Leopoldo, Cruz López. (2007). Volatiles of Mango var. Ataulfo Characterized by SPME and Capillary GC/MS Spectroscopy. *Journal of the Mexican Chemical Society*.
- Imbert, E., Loeillet, D., Dawson, C., Gerbaud, P., Paqui, T., & Bright, R. (Mars 2014). En direct des marchés. *FruitTrop*. vol. 221, pp 23-62.
- Ingham, K. E., Linforth, R. S., & Taylor, A. J. (1995). The effect of eating on aroma release from mint-flavoured sweets. *Flavour and Fragrance Journal*, 10(1), 15-24.
- Ito, H., & Sugiyama, J. (2000). Nondestructive harvest time decision of melons by a portable firmness tester. In *II Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes 579*, (pp. 367-371).
- Jarimopas, B., & Kitthawee, U. (2007). Firmness properties of mangoes. *International Journal of Food Properties*, 10(4), 899-909.
- Jha, S. K., Sethi, S., Srivastav, M., Dubey, A. K., Sharma, R. R., Samuel, D. V. K., & Singh, A. K. (2010). Firmness characteristics of mango hybrids under ambient storage. *Journal of Food Engineering*, 97(2), 208-212.
- Jha, S. N., Chopra, S., & Kingsly, A. R. P. (2007). Modeling of color values for nondestructive evaluation of maturity of mango. *Journal of Food Engineering*, 78(1), 22-26.
- Jha, S. N., Jaiswal, P., Narsaiah, K., Gupta, M., Bhardwaj, R., & Singh, A. K. (2012). Non-destructive prediction of sweetness of intact mango using near infrared spectroscopy. *Scientia Horticulturae*, 138, 171-175.
- Jha, S. N., Kingsly, A. R. P., & Chopra, S. (2006). Non-destructive Determination of Firmness and Yellowness of Mango during Growth and Storage using Visual Spectroscopy. *Biosystems Engineering*, 94(3), 397-402.
- Jha, S. N., Narsaiah, K., Jaiswal, P., Bhardwaj, R., Gupta, M., Kumar, R., & Sharma, R. (2014). Nondestructive prediction of maturity of mango using near infrared spectroscopy. *Journal of Food Engineering*, 124, 152-157.
- Joas, J., Vulcain, E., Desvignes, C., Morales, E., & Lechaudel, M. (2012). Physiological age at harvest regulates the variability in postharvest ripening, sensory and nutritional

- characteristics of mango (*Mangifera indica* L.) cv. Cogshall due to growing conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(6), 1282-1290.
- Junwei, Z., Kye-Chung, P., & Thomas C., B. (2003). Identification of Odors from Overripe Mango That Attract Vinegar Flies, *Drosophila melanogaster*. *Journal of Chemical Ecology*, 29(4), 899-909.
- Kanasawud, P., & Crouzet, J. C. (1990). Mechanism of formation of volatile compounds by thermal degradation of carotenoids in aqueous medium. 1. β -Carotene degradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(1), 237-243.
- Keenan, D. F., Brunton, N. P., Mitchell, M., Gormley, R., & Butler, F. (2012). Flavour profiling of fresh and processed fruit smoothies by instrumental and sensory analysis. *Food Research International*, 45(1), 17-25.
- Kittiphoom, S. (2012). Utilization of mango seed. *International Food Research Journal*, 19(4), 1325-1335.
- Kopjar, M., Andriot, I., Saint-Eve, A., Souchon, I., & Guichard, E. (2010). Retention of aroma compounds: an interlaboratory study on the effect of the composition of food matrices on thermodynamic parameters in comparison with water. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(8), 1285-1292.
- Krautwurst, D., Yau, K.-W., & Reed, R. R. (1998). Identification of Ligands for Olfactory Receptors by Functional Expression of a Receptor Library. *Cell*, 95(7), 917-926.
- Kulkarni, R. S., Chidley, H. G., Pujari, K. H., Giri, A. P., & Gupta, V. S. (2012). Geographic variation in the flavour volatiles of Alphonso mango. *Food Chemistry*, 130(1), 58-66.
- Lalel, H. J. D., Singh, Z., & Tan, S. C. (2003a). Aroma volatiles production during fruit ripening of 'Kensington Pride' mango. *Postharvest Biology and Technology*, 27(3), 323-336.
- Lalel, H. J. D., Singh, Z., & Tan, S. C. (2003b). Distribution of aroma volatile compounds in different parts of mango fruit. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 78(2), 131-138
- Lalel, H. J. D., Singh, Z., & Tan, S. C. (2003c). Glycosidically-bound aroma volatile compounds in the skin and pulp of 'Kensington Pride' mango fruit at different stages of maturity. *Postharvest Biology and Technology*, 29(2), 205-218.
- Lauverjat, C., Déléris, I., Trélea, I. C., Salles, C., & Souchon, I. (2009). Salt and aroma compound release in model cheeses in relation to their mobility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21), 9878-9887.
- Lawrence, G., Salles, C., Septier, C., Busch, J., & Thomas-Danguin, T. (2009). Odour–taste interactions: A way to enhance saltiness in low-salt content solutions. *Food Quality and Preference*, 20(3), 241-248.
- Lebrun, M., Plotto, A., Goodner, K., Ducamp, M.-N., & Baldwin, E. (2008). Discrimination of mango fruit maturity by volatiles using the electronic nose and gas chromatography. *Postharvest Biology and Technology*, 48(1), 122-131.
- Ledeker, C. N., Chambers, D. H., Chambers, E. t., & Adhikari, K. (2012). Changes in the sensory characteristics of mango cultivars during the production of mango puree and sorbet. *Journal of Food Science*, 77(10), S348-355.

- Ledeker, C. N., Suwonsichon, S., Chambers, D. H., & Adhikari, K. (2014). Comparison of sensory attributes in fresh mangoes and heat-treated mango purées prepared from Thai cultivars. *LWT - Food Science and Technology*, 56(1), 138-144.
- Leffingwell & Associates (2008). <http://www.leffingwell.com/odorthre.htm>, Accessed August 2016.
- Li, J. X., Schieberle, P., & Steinhaus, M. (2012). Characterization of the major odor-active compounds in Thai durian (*Durio zibethinus* L. 'Monthong') by aroma extract dilution analysis and headspace gas chromatography-olfactometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(45), 11253-11262.
- Linforth, R. S. T., & Taylor, A. J. (1993). Measurement of volatile release in the mouth. *Food Chemistry*, 48(2), 115-120.
- Litz, R. E. (2009). Fruit Processing, *The mango, Botany, Production and Uses, 2nd Edition*. CABI Publishing. pp 628-640.
- Liu, F., Grauwet, T., Kebede, B. T., Van Loey, A., Liao, X., & Hendrickx, M. (2014). Comparing the Effects of High Hydrostatic Pressure and Thermal Processing on Blanched and Unblanched Mango (*Mangifera indica* L.) Nectar: Using Headspace Fingerprinting as an Untargeted Approach. *Food and Bioprocess Technology*, 7(10), 3000-3011.
- Lubbers, S., & Guichard, E. (2003). The effects of sugars and pectin on flavour release from a fruit pastille model system. *Food Chemistry*, 81(2), 269-273.
- MacLeod, A. J., & de Troconis, N. G. (1982). Volatile flavour components of mango fruit. *Phytochemistry*, 21(10), 2523-2526.
- MacLeod, A. J., & Snyder, C. H. (1985). Volatile components of two cultivars of mango from Florida. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33(3), 380-384.
- Majcher, M., & Jeleń, H. H. (2009). Comparison of suitability of SPME, SAFE and SDE methods for isolation of flavor compounds from extruded potato snacks. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(6), 606-612.
- Malundo, T. M. M., Baldwill, E. A., Ware, G. O., & Shewfelt, R. L. (1996). Volatile composition and interaction influence flavor properties of mango (*Mangifera indica* L.). In *Proceedings-Florida State Horticultural Society*, vol. 109 (pp. 264-268): Florida State Horticultural Society.
- Malundo, T. M. M., Shewfelt, R. L., & Ware, G. O. (2001). An alternative method for relating consumer and descriptive data used to identify critical flavor properties of mango (*Mangifera Indica* L.). *Journal of sensory studies*, 16(2), 199-214.
- Malundo, T. M. M., Shewfelt, R. L., Ware, G. O., & Baldwin, E. A. (2001). Sugars and Acids Influence Flavor Properties of Mango (*Mangifera indica*). *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126(1), 115-121.
- Marsh, K. B., Friel, E. N., Gunson, A., Lund, C., & MacRae, E. (2005). Perception of flavour in standardised fruit pulps with additions of acids or sugars. *Food Quality and Preference*, 17(5), 376-386.
- Masibo, M., & He, Q. (2009). Mango Bioactive Compounds and Related Nutraceutical Properties - A Review. *Food Reviews International*, 25(4), 346-370.

- Materić, D., Lanza, M., Sulzer, P., Herbig, J., Bruhn, D., Turner, C., Mason, N., & Gauci, V. (2015). Monoterpene separation by coupling proton transfer reaction time-of-flight mass spectrometry with fastGC. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(25), 7757-7763.
- Mayr, C. M., Parker, M., Baldock, G. A., Black, C. A., Pardon, K. H., Williamson, P. O., Herderich, M. J., & Francis, I. L. (2014). Determination of the importance of in-mouth release of volatile phenol glycoconjugates to the flavor of smoke-tainted wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(11), 2327-2336.
- Mehinagic, E., Prost, C., & Demaimay, M. (2004). Optimization of extraction of apple aroma by dynamic headspace and influence of saliva on extraction of volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(16), 5175-5182.
- Menezes Filho, A., dos Santos, F. N., & Pereira, P. A. (2010). Development, validation and application of a methodology based on solid-phase micro extraction followed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (SPME/GC-MS) for the determination of pesticide residues in mangoes. *Talanta*, 81(1-2), 346-354.
- Miekisch, W., Schubert, J. K., & Noeldge-Schomburg, G. F. E. (2004). Diagnostic potential of breath analysis - focus on volatile organic compounds. *Clinica Chimica Acta*, 347(1-2), 25-39.
- Mitropoulou, A., Hatzidimitriou, E., & Paraskevopoulou, A. (2011). Aroma release of a model wine solution as influenced by the presence of non-volatile components. Effect of commercial tannin extracts, polysaccharides and artificial saliva. *Food Research International*, 44(5), 1561-1570.
- Munafó, J. P., Jr., Didzbalis, J., Schnell, R. J., Schieberle, P., & Steinhaus, M. (2014). Characterization of the major aroma-active compounds in mango (*Mangifera indica* L.) cultivars Haden, White Alfonso, Praya Sowoy, Royal Special, and Malindi by application of a comparative aroma extract dilution analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(20), 4544-4551.
- Munafó, J. P., Jr., Didzbalis, J., Schnell, R. J., & Steinhaus, M. (2016). Insights into the Key Aroma Compounds in Mango (*Mangifera indica* L. 'Haden') Fruits by Stable Isotope Dilution Quantitation and Aroma Simulation Experiments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(21), 4312-4318.
- Muñoz-González, C., Feron, G., Guichard, E., Rodríguez-Bencomo, J. J., Martín-Alvarez, P. J., Moreno-Arribas, M. V., & Pozo-Bayón, M. A. n. (2014). Understanding the role of saliva in aroma release from wine by using static and dynamic headspace conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(33), 8274-8288.
- Munoz-Gonzalez, C., Martin-Alvarez, P. J., Moreno-Arribas, M. V., & Pozo-Bayon, M. A. (2014a). Impact of the nonvolatile wine matrix composition on the in vivo aroma release from wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(1), 66-73.
- Munoz-Gonzalez, C., Martin-Alvarez, P. J., Moreno-Arribas, M. V., & Pozo-Bayon, M. A. (2014b). Impact of the nonvolatile wine matrix composition on the in vivo aroma release from wines. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 62(1), 66-73.
- Muñoz-González, C., Rodríguez-Bencomo, J. J., Moreno-Arribas, M. V., & Pozo-Bayón, M. Á. (2014). Feasibility and application of a retronasal aroma-trapping device to study

- in vivo aroma release during the consumption of model wine-derived beverages. *Food Science & Nutrition*, 2(4), 361-370.
- Muñoz-González, C., Sémon, E., Martín-Álvarez, P. J., Guichard, E., Moreno-Arribas, M. V., Feron, G., & Pozo-Bayón, M. Á. (2015). Wine matrix composition affects temporal aroma release as measured by proton transfer reaction - time-of-flight - mass spectrometry. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(3), 367-375.
- Murat, C., Bard, M.-H., Dhalleine, C., & Cayot, N. (2013). Characterisation of odour active compounds along extraction process from pea flour to pea protein extract. *Food Research International*, 53(1), 31-41.
- Naef, R., Velluz, A., & Jaquier, A. (2005). The perfume of carabao mangoes (*Mangifera indica* L.). *European Food Research and Technology*, 222(5-6), 554-558.
- Nielsen, S. (2014). Food analysis, *Springer Science & Business Media*. pp
- Ning, L., Fu-ping, Z., Hai-tao, C., Si-yuan, L., Chen, G., Zhen-yang, S., & Bao-guo, S. (2011). Identification of volatile components in Chinese Sinkiang fermented camel milk using SAFE, SDE, and HS-SPME-GC/MS. *Food Chemistry*, 129(3), 1242-1252.
- NIST, National Institute of Standards and Technology (2011). <http://webbook.nist.gov/>, Accessed August 2016.
- Olle, D., Baron, A., Lozano, Y. F., Sznaper, C., Baumes, R., Bayonove, C., & Brillouet, J. M. (1997). Microfiltration and Reverse Osmosis Affect Recovery of Mango Puree Flavor Compounds. *Journal of Food Science*, 62(6), 1116-1119.
- Olle, D., Baumes, R. L., Bayonove, C. L., Lozano, Y. F., Sznaper, C., & Brillouet, D. M. (1998). Comparison of Free and Glycosidically Linked Volatile Components from Polyembryonic and Monoembryonic Mango (*Mangifera indica* L.) Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(3), 1094-1100.
- Pandit, S. S., Chidley, H. G., Kulkarni, R. S., Pujari, K. H., Giri, A. P., & Gupta, V. S. (2009). Cultivar relationships in mango based on fruit volatile profiles. *Food Chemistry*, 114(1), 363-372.
- Pandit, S. S., Kulkarni, R. S., Chidley, H. G., Giri, A. P., Pujari, K. H., Köllner, T. G., Degenhardt, J., Gershenzon, J., & Gupta, V. S. (2009). Changes in volatile composition during fruit development and ripening of 'Alphonso' mango. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(12), 2071-2081.
- Paravisini, L., Gourrat-Pernin, K., Gouttefangeas, C., Moretton, C., Nigay, H., Dacremont, C., & Guichard, E. (2012). Identification of compounds responsible for the odorant properties of aromatic caramel. *Flavour and Fragrance Journal*, 27(6), 424-432.
- Parker, M., Osidacz, P., Baldock, G. A., Hayasaka, Y., Black, C. A., Pardon, K. H., Jeffery, D. W., Geue, J. P., Herderich, M. J., & Francis, I. L. (2012). Contribution of several volatile phenols and their glycoconjugates to smoke-related sensory properties of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(10), 2629-2637.
- Paull, R. E., & Duarte, O. (2011). Mango, *Tropical Fruits, Volume 1. CAB International*. pp 252-290.
- Pech, J.-C., Purgatto, E., Bouzayen, M., & Latché, A. (2012). Ethylene and fruit ripening, *Annual Plant Reviews : The Plant Hormone Ethylene*. M. T. McManus, Wiley-Blackwell. pp 275-304.

- Phakawatmongkol, W., Ketsa, S., & Doorn, W. G. v. (2004). Variation in fruit chilling injury among mango cultivars. *Postharvest Biology and Technology*, 32(1), 115-118.
- Pherobase (2014). <http://www.pherobase.com/database/compound/compounds-index.php>, Accessed August 2016.
- Phillips, M., Herrera, J., Krishnan, S., Zain, M., Greenberg, J., & Cataneo, R. N. (1999). Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 729(1–2), 75-88.
- Pino, J. A. (2012). Odour-active compounds in mango (*Mangifera indica* L. cv. Corazón). *International Journal of Food Science and Technology*, 47(9), 1944-1950.
- Pino, J. A., & Mesa, J. (2006). Contribution of volatile compounds to mango (*Mangifera indica* L.) aroma. *Flavour and Fragrance Journal*, 21(2), 207-213.
- Pino, J. A., Mesa, J., Munoz, Y., Marti, M. P., & Marbot, R. (2005). Volatile components from mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 2213-2223.
- Pionnier, E. (2003). *Libération et perception des composés de la flaveur au cours de la mastication d'une base fromagère*. Food Science Thesis. Ecole National Supérieure de Biologie Appliquée à la Nutrition et à l'Alimentation, Bourgogne University.
- Pionnier, E., Chabanet, C., Mioche, L., Le Quere, J. L., & Salles, C. (2004). 1. In vivo aroma release during eating of a model cheese: relationships with oral parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(3), 557-564.
- Pionnier, E., Sémon, E., Chabanet, C., & Salles, C. (2005). Évaluation de la technique de microextraction sur phase solide (SPME) pour l'analyse de l'air humain exhalé pendant la consommation d'aliments. *Sciences des Aliments*, 25(3), 193-206.
- Poinot, P., Arvisenet, G., Ledauphin, J., Gaillard, J.-L., & Prost, C. (2013). How can aroma-related cross-modal interactions be analysed? A review of current methodologies. *Food Quality and Preference*, 28(1), 304-316.
- Poinot, P., Arvisenet, G., Texier, F., Lethuaut, L., Mehinagic, E., Vigneau, E., & Prost, C. (2011). Use of sense masking to study sensory modalities singly: Interest for the understanding of apple in-mouth perception. *Food Quality and Preference*, 22(6), 573-580.
- Pott, I., Neidhart, S., Mühlbauer, W., & Carle, R. (2005). Quality improvement of non-sulphited mango slices by drying at high temperatures. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(4), 412-419.
- Rabe, S., Krings, U., Banavara, D. S., & Berger, R. G. (2002). Computerized apparatus for measuring dynamic flavor release from liquid food matrices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22), 6440-6447.
- Romano, A., Fischer, L., Herbig, J., Campbell-Sills, H., Coulon, J., Lucas, P., Cappellin, L., & Biasioli, F. (2014). Wine analysis by FastGC proton-transfer reaction-time-of-flight-mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*, 369, 81-86.
- Sakho, M., Chassagne, D., & Crouzet, J. (1997). African Mango Glycosidically Bound Volatile Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(3), 883-888.

- Salles, C., Tarrega, A., Mielle, P., Maratray, J., Gorria, P., Liaboeuf, J., & Liodenot, J. J. (2007). Development of a chewing simulator for food breakdown and the analysis of in vitro flavor compound release in a mouth environment. *Journal of Food Engineering*, 82(2), 189-198.
- Sanchez, J. M., & Sacks, R. D. (2006). Development of a multibed sorption trap, comprehensive two-dimensional gas chromatography, and time-of-flight mass spectrometry system for the analysis of volatile organic compounds in human breath. *Analytical chemistry*, 78(9), 3046-3054.
- Sanz, G., Schlegel, C., Pernollet, J.-C., & Briand, L. (2005). Comparison of odorant specificity of two human olfactory receptors from different phylogenetic classes and evidence for antagonism. *Chemical Senses*, 30(1), 69-80.
- Sarry, J.-E., & Günata, Z. (2004). Plant and microbial glycoside hydrolases: volatile release from glycosidic aroma precursors. *Food Chemistry*, 87(4), 509-521.
- Savary, G., Guichard, E., Doublier, J. L., Cayot, N., & Moreau, C. (2006). Influence of ingredients on the self-diffusion of aroma compounds in a model fruit preparation: an nuclear magnetic resonance-diffusion-ordered spectroscopy investigation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(3), 665-671.
- Savary, G., Lafarge, C., Doublier, J.-L., & Cayot, N. (2007). Distribution of aroma in a starch-polysaccharide composite gel. *Food Research International*, 40(6), 709-716.
- Schmilovitch, Z. e., Mizrach, A., Hoffman, A., Egozi, H., & Fuchs, Y. (2000). Determination of mango physiological indices by near-infrared spectrometry. *Postharvest Biology and Technology*, 19(3), 245-252.
- Shang, C., Deng, C., Zhang, X., Chen, Z., & Hu, Y. (2002). Headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry analysis of free volatile compounds in Mango. *Chromatographia*, 55(11-12), 737-741.
- Shankar, M. U., Levitan, C. A., & Spence, C. (2010). Grape expectations: The role of cognitive influences in color-flavor interactions. *Consciousness and Cognition*, 19(1), 380-390.
- Sharma, M., Kadam, D. M., Chadha, S., Wilson, R. A., & Gupta, R. K. (2013). Influence of particle size on physical and sensory attributes of mango pulp powder. *International Agrophysics*, 27(3).
- Starkenmann, C., Le Calvé, B., Niclass, Y., Cayeux, I., Beccucci, S., & Troccaz, M. (2008). Olfactory Perception of Cysteine-S-Conjugates from Fruits and Vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(20), 9575-9580.
- Suwonsichon, S., Chambers Iv, E., Kongpensook, V., & Oupadissakoon, C. (2012). Sensory Lexicon for Mango as Affected by Cultivars and Stages of Ripeness. *Journal of sensory studies*, 27(3), 148-160.
- Tamura, H., Boonbumrung, S., Yoshizawa, T., & Varayanond, W. (2000). Volatile Components of the Essential Oils in the Pulp of Four Yellow Mangoes (*Mangifera indica* L.) in Thailand. *Food Science and Technology Research*, 6(1), 68-73.
- Tarrega, A., Yven, C., Sémon, E., & Salles, C. (2008). Aroma release and chewing activity during eating different model cheeses. *International Dairy Journal*, 18(8), 849-857.

- Tharanathan, R. N., Yashoda, H. M., & Prabha, T. N. (2006). Mango (*Mangifera indica* L.), “The King of Fruits”—An Overview. *Food Reviews International*, 22(2), 95-123.
- The LRI and Odour Database (2006). <http://www.odour.org.uk/index.html>, Accessed August 2016.
- Ting, V. J. L., Romano, A., Silcock, P., Bremer, P. J., Corollaro, M. L., Soukoulis, C., Cappellin, L., Gasperi, F., & Biasioli, F. (2015). Apple flavor: Linking sensory perception to volatile release and textural properties. *Journal of Sensory Studies*, 30(3), 195-210.
- Ting, V. J. L., Romano, A., Soukoulis, C., Silcock, P., Bremer, P. J., Cappellin, L., & Biasioli, F. (2016). Investigating the in-vitro and in-vivo flavour release from 21 fresh-cut apples. *Food Chemistry*, 212, 543-551.
- Ting, V. J. L., Soukoulis, C., Silcock, P., Cappellin, L., Romano, A., Aprea, E., Bremer, P. J., Mark, T. D., Gasperi, F., & Biasioli, F. (2012). In vitro and in vivo flavor release from intact and fresh-cut apple in relation with genetic, textural, and physicochemical parameters. *Journal of Food Science*, 77(11), C1226-1233.
- Torres, J. D., Chiralt, A., & Escriche, I. (2012). Development of volatile fraction of fresh cut osmotically treated mango during cold storage. *Food Chemistry*, 130(4), 921-927.
- Tournier, C., Sulmont-Rossé, C., & Guichard, E. (2007). Flavour perception: aroma, taste and texture interactions. *Food*, 1(2), 246-257.
- Valente, M., & Ferrandis, J. Y. (2003). Evaluation of textural properties of mango tissue by a near-field acoustic method. *Postharvest Biology and Technology*, 29(2), 219-228.
- Valente, M., Prades, A., & Laux, D. (2013). Potential use of physical measurements including ultrasound for a better mango fruit quality characterization. *Journal of Food Engineering*, 116(1), 57-64.
- Valente, M., Ribeyre, F., Self, G., Berthiot, L., & Assemat, S. (2011). Instrumental and sensory characterization of mango fruit texture. *Journal of Food Quality*, 34(6), 413-424.
- Valero, C., Crisosto, C. H., & Slaughter, D. (2007). Relationship between nondestructive firmness measurements and commercially important ripening fruit stages for peaches, nectarines and plums. *Postharvest Biology and Technology*, 44(3), 248-253.
- Van Ruth, S. M., Dings, L., Buhr, K., & Posthumus, M. A. (2004). In vitro and in vivo volatile flavour analysis of red kidney beans by proton transfer reaction–mass spectrometry. *Food Research International*, 37(8), 785-791.
- Van Ruth, S. M., Grossmann, I., Geary, M., & Delahunty, C. M. (2001). Interactions between artificial saliva and 20 aroma compounds in water and oil model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2409-2413.
- Van Ruth, S. M., King, C., & Giannouli, P. (2002). Influence of lipid fraction, emulsifier fraction, and mean particle diameter of oil-in-water emulsions on the release of 20 aroma compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8), 2365-2371.
- Van Ruth, S. M., O'Connor, C. H., & Delahunty, C. M. (2000). Relationships between temporal release of aroma compounds in a model mouth system and their physico-chemical characteristics. *Food Chemistry*, 71(3), 393-399.

- Van Ruth, S. M., & Roozen, J. P. (2000). Influence of mastication and saliva on aroma release in a model mouth system. *Food Chemistry*, 71(3), 339-345.
- Van Ruth, S. M., Roozen, J. P., & Cozijnsen, J. L. (1995). Changes in flavour release from rehydrated: Diced bell peppers (*Capsicum annuum*) by artificial saliva components in three mouth model systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 67(2), 189-196.
- Varelis, P., Zabarás, D., Watkins, P., Ceccato, C., Wijesundera, C., Frank, D., & O'Riordan, P. (2006). Deconstruction and recreation of 'hayward' volatile flavour using a trained sensory panel, olfactometry and a kiwifruit model matrix. In *VI International Symposium on Kiwifruit 753*, (pp. 107-119).
- Vodovotz, Y., Arteaga, G. E., & Nakai, S. (1993). Principal component similarity analysis for classification and its application to GC data of mango. *Food Research International*, 26(5), 355-363.
- Williams, P. J., Strauss, C. R., & Wilson, B. (1980). Hydroxylated linalool derivatives as precursors of volatile monoterpenes of Muscat grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(4), 766-771.
- Xavier, F. D., Cabrol-Bass. (2007). Analyse des arômes, *Technique d'analyse - Techniques de l'Ingénieur*. pp 1-22 (Réf.3233).
- Xu, Y., Fan, W., & Qian, M. C. (2007). Characterization of aroma compounds in apple cider using solvent-assisted flavor evaporation and headspace solid-phase microextraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(8), 3051-3057.
- Zardin, E., Tyapkova, O., Buettner, A., & Beauchamp, J. (2014). Performance assessment of proton-transfer-reaction time-of-flight mass spectrometry (PTR-TOF-MS) for analysis of isobaric compounds in food-flavour applications. *LWT - Food Science and Technology*, 56(1), 153-160.

Résumé

Les préférences et le comportement alimentaire des consommateurs sont en grande partie influencés par la composante aromatique des aliments. Notre perception aromatique (ou perception rétronasale) est étroitement liée à la libération *in vivo* des composés d'arôme lors de la consommation des aliments. Cette libération *in vivo* est elle-même influencée par un grand nombre de facteurs intrinsèques à l'aliment (nature et quantité des composés d'arôme, composants matriciels non-volatils, texture) ou bien liés à la physiologie orale des sujets (salivation, mastication, respiration, déglutition). L'objectif du travail entrepris est axé sur la compréhension de l'influence de la texture d'un fruit sur la libération *in vivo* et sur la perception aromatique des composés d'arôme, dans le cas d'un fruit frais ou transformé. Le fruit modèle utilisé pour cette étude est la mangue de par son potentiel aromatique et sa capacité à se décliner en différents produits. À partir d'un lot de mangues Kent homogène, 2 produits frais (purée fraîche et cubes frais) et 2 produits séchés (poudre séchée et cubes séchés) ont été élaborés pour disposer de paires de produits similaires d'un point de vue composition aromatique mais différents d'un point de vue texture. Dans un 1^{er} temps, le potentiel aromatique des produits de mangue a été déterminé par la technique SAFE/GC-MS (*Solvent assisted flavor evaporation/Gas Chromatography Mass Spectrometry*). Les produits présentent majoritairement des composés terpéniques suivis de lactones et d'alcools. Sur les 50 composés d'arôme identifiés, 20 composés d'arôme peuvent être considérés comme potentiellement impactant dans l'arôme des produits de mangue d'après leur concentration et leur seuil de perception. Dans un 2^{ème} temps, la libération *in vivo* des composés d'arôme des produits de mangue a été étudiée par RATD/GC-MS (*Retronasal Aroma-Trapping Device*) avec un panel de 8 sujets entraînés. Le protocole de dégustation a été imposé au moyen d'une animation visuelle limitant ainsi les variabilités physiologiques orales intra- et inter-individuelles. 21 composés d'arôme (17 monoterpènes, 3 sesquiterpènes et un ester) ont été significativement plus libérés en *in vivo* sur les produits structurés (cubes frais et séchés) que déstructurés (purée fraîche et poudre séchée). Les expériences *in vitro* menées en Purge and Trap, avec les produits de mangue en présence de la salive des panélistes, laissent penser que la salive humaine n'est pas intervenue dans la libération *in vivo* des composés d'arôme. Enfin, par analyse sensorielle, les cubes frais ont été notés significativement plus aromatiques (notes *mangue*, *épicee*) que la purée fraîche, ce qui appuie les résultats obtenus en libération *in vivo* des composés d'arôme sur produits frais. En revanche, cette même relation en lien avec la texture du produit n'a pas été observée dans le cas des produits séchés, la poudre séchée ayant été notée significativement plus aromatique (notes *fruitée*, *épicee*, *cuite*) que les cubes séchés.

Mots clés : Texture des fruits, composés d'arôme, libération *in vivo*, perception aromatique, RATD (Retronasal Aroma-Trapping Device), analyse sensorielle

Abstract

Flavour is one of the main factors affecting consumer's food preference. Our aromatic perception (or retronasal perception) is greatly linked to the *in vivo* release of aroma compounds during food consumption. This *in vivo* aroma release was itself influenced by the food matrix (nature and amount of aroma compounds, non-volatile compounds, texture, etc.) and the human oral physiology and oral processing (salivation, chewing, breathing, swallowing, etc.). The present study investigated the impact of fruit matrix texture on the *in vivo* release of aroma compounds and flavour perception. Mango was chosen as model fruit because of its richness in aroma compounds and its ability to process it into various products. From a homogenous mango fruit (cv. Kent) batch two fresh (fresh cubic pieces, fresh puree) and two dried (dried cubic pieces, dried powder) products were prepared to obtain pairwise samples similar on their aromatic composition but differing in their texture. In a first step, the aromatic profiles of mango samples were determined through the extraction of aroma compounds by solvent assisted flavor evaporation (SAFE) technique and gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS) analysis. Aroma compounds from mango products were mainly terpenic compounds followed by alcohols and lactones. Among the 50 aroma compounds identified, 20 could be considered as potential key flavour compounds on the basis of their amount and odor threshold. In a second step, the *in vivo* aroma release during consumption of mango samples by 8 trained assessors was studied using a retronasal aroma-trapping device (RATD) followed by GC-MS analysis. A strict consumption protocol with a visual animation was submitted to the assessors to limit intra- and inter-individual oral variability. 21 aroma compounds (17 monoterpenes, 3 sesquiterpenes and 1 ester) were significantly released at higher levels from the intact samples (fresh and dried cubic pieces) than from the disintegrated samples (fresh puree, dried powder). Impact of saliva on the release of aroma compounds was found non-significant through the *in vitro* experiments conducted with Purge and Trap technique including mango samples and assessors' saliva. Finally in sensory analysis, the fresh cubic pieces were significantly rated more flavoured (*mango*, *spicy* attributes) than fresh puree in agreement with the *in vivo* aroma release results on the fresh products. In contrast, the same relationship was not observed regarding the texture of the samples for the dried products, i.e. dried powder was significantly rated more flavoured (*fruity*, *spicy*, *cooked* attributes) than intact dried pieces.

Keywords: Fruit Texture, aroma compounds, *in vivo* release, flavour perception, RATD (Retronasal Aroma-Trapping Device), sensory analysis.