

---

## 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<sup>ème</sup> 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<sup>er</sup> 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<sup>e</sup> 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<sup>ère</sup> 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<sup>er</sup> 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  $\alpha$ - et  $\beta$ -caryophyllène ainsi que l'étalon  $\alpha$ -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 <sub>j</sub> <b>A(i, F<sub>j</sub>)</b>				Total des aires brutes (TIC) par composé i <b>Σ A(i, F)</b>
	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 <sub>j</sub> <b>Σ A(F<sub>j</sub>)</b>	1413641721 a	381930511 c	1238972713 b	1314253006 ab	4348797952 <b>Σ A(F)</b>

*Légende :*

**A(i, F<sub>j</sub>)** 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<sub>j</sub>)** 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 <sub>j</sub> <b>P(i, F<sub>j</sub>)</b>			
	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
<b>Potentiel d'extraction (%) par fibre F<sub>j</sub> P(F<sub>j</sub>)</b>	<b>32.5 a</b>	<b>8.8 c</b>	<b>28.5 b</b>	<b>30.2 ab</b>

Légende :

**P(i, F<sub>j</sub>)** soit le potentiel d'extraction de la fibre j pour le composé i vis-à-vis des autres fibres SPME testées ; **P(F<sub>j</sub>)** 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  $\alpha$  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  $\delta$ -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' $\alpha$ -pinène, du  $\beta$ -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  $\beta$ -caryophyllène (20.2 %) et le tube T-3921 pour l' $\alpha$ -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	
<b>Esters</b>										
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	
<b>Monoterpènes</b>										
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	
<b>Sesquiterpènes</b>										
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	
<b>Total des COVs extraits</b>	/	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' $\alpha$ -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).

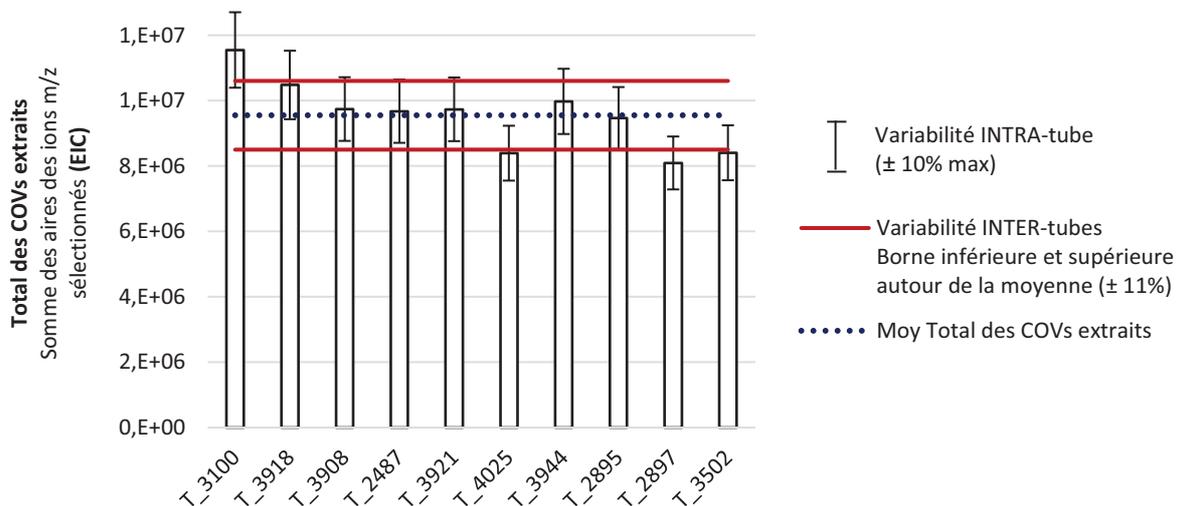


Figure 36. Variabilité d'extraction intra et inter-tubes sur le total des COVs extraits.

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<sup>er</sup> 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<sup>ème</sup> 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	
<b>Esters</b>							
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
<b>Monoterpènes</b>							
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
<b>Sesquiterpènes</b>							
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
<b>Total des COVs extraits</b>	/	203110140	352420	0.17	218482828	1783812	0.81

Les résultats obtenus sur les 2 montages en série montrent que le 2<sup>ème</sup> 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 J<sub>4</sub> libère autant de COVs quel que soit le temps de repos entre dégustation. En revanche, le sujet J<sub>5</sub> libère davantage d'esters (butanoate de butyle, butanoate d'éthyle, 3-méthylbutanoate d'éthyle, propanoate d'éthyle) et de  $\beta$ -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.**

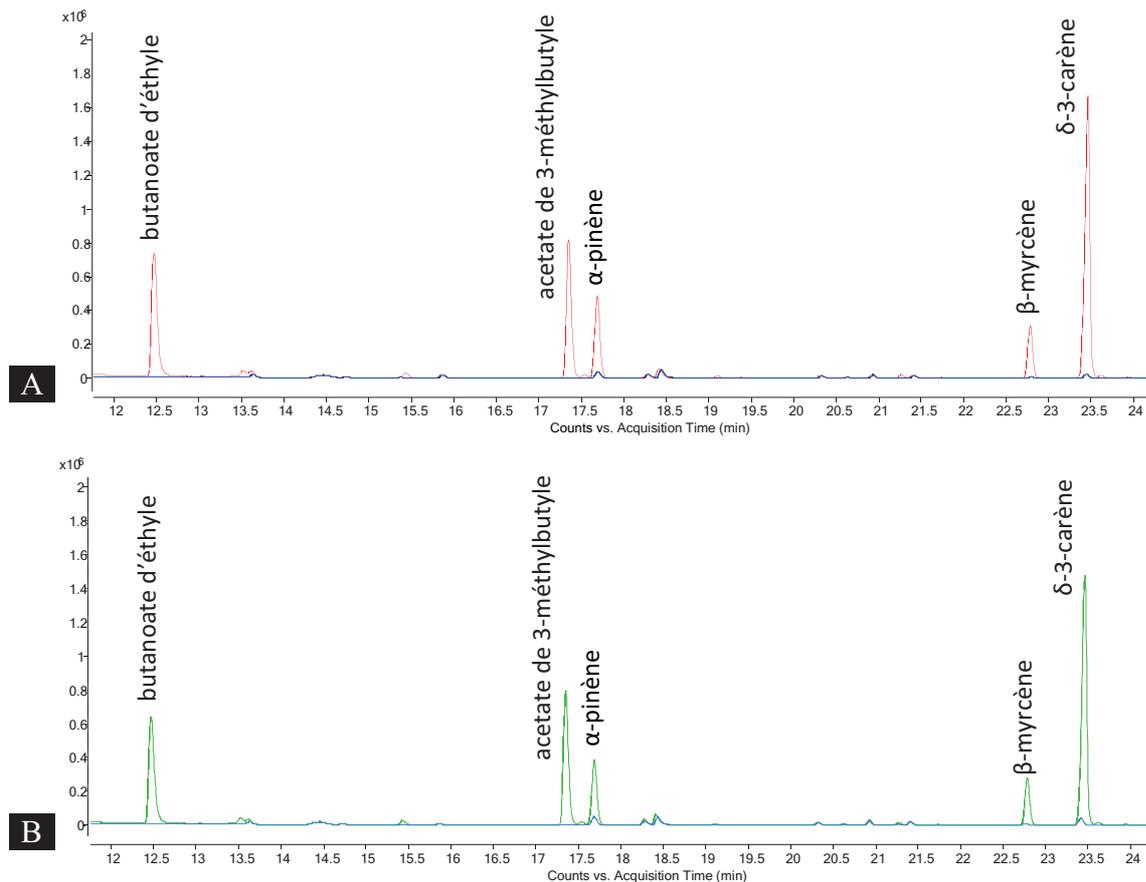
Composé	Ion (m/z) <sup>a</sup>	Moyenne des aires brutes EIC (aire de l'ion m/z sélectionné) par g de purée <sup>b</sup>							
		Sujet J <sub>4</sub>				Sujet J <sub>5</sub>			
		Repos 1h		Repos 30 min		Repos 1h		Repos 30 min	
		Moy	CV	Moy	CV	Moy	CV	Moy	CV
<b><i>Esters</i></b>									
butanoate de butyle	71	17246	67.6	8071	13.0	<b>8751 a</b>	<b>37.8</b>	<b>18754 b</b>	<b>26.3</b>
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	<b>30245 a</b>	<b>42.7</b>	<b>75895 b</b>	<b>26.1</b>
3-méthylbutanoate d'éthyle	88	3715	71.3	1717	20.1	<b>1722 a</b>	<b>44.9</b>	<b>4225 b</b>	<b>27.4</b>
propanoate d'éthyle	102	2308	68.0	1023	15.7	<b>1007 a</b>	<b>38.6</b>	<b>2352 b</b>	<b>26.9</b>
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
<b><i>Monoterpènes</i></b>									
α-pinène	93	45097	46.4	32376	26.0	27024	49.4	40698	27.9
β-myrcène	93	28895	54.9	18259	22.5	<b>17051 a</b>	<b>40.3</b>	<b>41344 b</b>	<b>29.8</b>
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 :*

<sup>a</sup>Ion caractéristique (m/z) choisi pour chaque composé, dont l'aire brute (EIC) est intégrée pour traiter les résultats RATD/GC-MS.

<sup>b</sup>Moyenne (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 J<sub>4</sub>, 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 J<sub>4</sub>.**

Légende :

Chromatogrammes obtenus (TIC) suite au test du temps de repos de 30 min. pour le sujet J<sub>4</sub> après extraction RATD *in vivo* des COVs sur la 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> 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 J<sub>4</sub>

(—) Dégustation de purée n°2 du sujet J<sub>4</sub>

**B** Séance de dégustation n°3

(—) Blanc de l'air n°3 du sujet J<sub>4</sub>

(—) Dégustation de purée n°3 du sujet J<sub>4</sub>

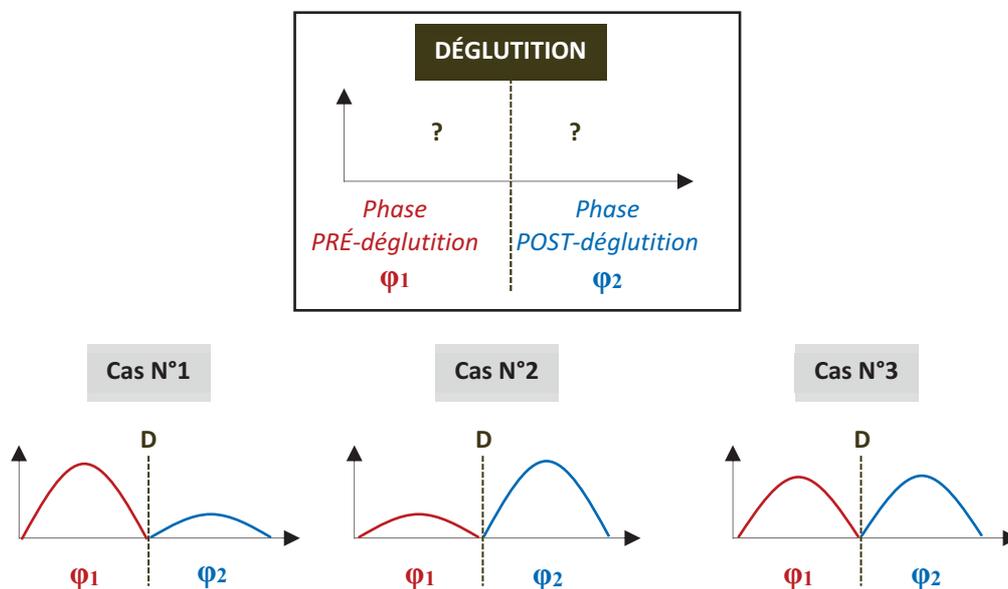
Il apparaît clairement que le sujet J<sub>4</sub> retrouve une neutralité aromatique en bouche entre les dégustations de purée suite à une période de repos de 30 min. (Figure 37). En effet, les blancs d'air sujet réalisés avant mise en bouche du produit sont suffisamment neutres. À noter cependant que 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<sup>er</sup> 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  $\varphi_1$  (Cas N°1), ou bien en phase post-déglutition  $\varphi_2$  (Cas N°2), ou bien autant dans les phases pré- et post-déglutition (Cas N°3, pas de différences significatives entre les phases  $\varphi_1$  et  $\varphi_2$ ).

**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  $\beta$ -myrcène,  $\delta$ -3-carène,  $\alpha$ -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  $\varphi_1$  et en phase  $\varphi_2$  n'est pas directement impactée par la forme structurée ou déstructurée du produit frais, mais est fonction du sujet. En effet, pour le sujet J<sub>3</sub>, la libération *in vivo* des COVs est plus importante en phase  $\varphi_2$  qu'en phase  $\varphi_1$ , et ceci, quel que soit le produit frais consommé (purée ou cubes). Le sujet J<sub>3</sub> illustre donc le cas N°2 de la Figure 38 pour la libération *in vivo* des COVs sur les 2 produits industriels. Le sujet J<sub>7</sub>, quant à lui, libère tout autant de COVs en phase  $\varphi_1$  qu'en phase  $\varphi_2$  quel que soit le produit frais dégusté. La libération *in vivo* des COVs pour le sujet J<sub>7</sub>, 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 <sub>3</sub>						Sujet J <sub>7</sub>					
	Purée			Cubes			Purée			Cubes		
	φ <sub>1</sub>	φ <sub>2</sub>	Total (φ <sub>1</sub> + φ <sub>2</sub> )	φ <sub>1</sub>	φ <sub>2</sub>	Total (φ <sub>1</sub> + φ <sub>2</sub> )	φ <sub>1</sub>	φ <sub>2</sub>	Total (φ <sub>1</sub> + φ <sub>2</sub> )	φ <sub>1</sub>	φ <sub>2</sub>	Total (φ <sub>1</sub> + φ <sub>2</sub> )
β-myrcène <sup>s</sup>	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 <sup>s</sup>	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 <sup>s</sup>	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 <sup>(SQ)</sup>	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 <sup>s</sup>	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 :

- (φ<sub>1</sub>) la phase pré-déglutition (32 sec.) ; (φ<sub>2</sub>) 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 φ<sub>1</sub> et φ<sub>2</sub>, 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 φ<sub>1</sub> et φ<sub>2</sub>, en vert les différences significatives entre produits de mangue sur le total des phases)

<sup>s</sup>Quantification des composés (en ng/kg de MS) d'après les courbes de calibration réalisées.

<sup>(SQ)</sup>Semi-quantification des composés (en µg équivalent d'α-cédrène /kg de MS).

En revanche, en considérant le total des phases (phase  $\varphi_1$  + phase  $\varphi_2$ ), 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 J<sub>3</sub> libère davantage d' $\alpha$ -terpinène, m-cymène et terpinolène lors de la consommation de la purée de mangue que sur les cubes. Dans le même sens, le sujet J<sub>7</sub> 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  $\alpha$ -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  $\alpha$ -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<sup>er</sup> blanc d'air sujet réalisé en amont de la 1<sup>ère</sup> dégustation produit, 3 monoterpènes ont été observés pour tous les dégustateurs RATD en quantité variable : l' $\alpha$ -pinène, le  $\beta$ -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  $\delta$ -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<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> 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<sup>er</sup> 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<sup>ème</sup> 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 *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).