

ACADEMIE DE MONTPELLIER
UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC
(Montpellier II)

THESE

Présentée à l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc pour obtenir le Diplôme de DOCTORAT

Spécialité : Biochimie, Biologie Cellulaire et Moléculaire
option Sciences Alimentaires

**CACAO : INFLUENCE DES PARAMETRES DE TORREFACTION
SUR LA CONSOMMATION DES PRECURSEURS D'AROME
ET LA FORMATION DE QUELQUES COMPOSES VOLATILS.**

par
Gérard MERMET

Soutenue le 20 octobre 1989 devant le jury composé de :

MM. J. CROUZET

Président

**E. CROS
P. DELEST
R.FELLOUS
H.RICHARD**

ACADEMIE DE MONTPELLIER
UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC
(Montpellier II)

THESE

Présentée à l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc pour obtenir le Diplôme de DOCTORAT

Spécialité : Biochimie, Biologie Cellulaire et Moléculaire
option Sciences Alimentaires

**CACAO : INFLUENCE DES PARAMETRES DE TORREFACTION
SUR LA CONSOMMATION DES PRECURSEURS D'AROME
ET LA FORMATION DE QUELQUES COMPOSES VOLATILS.**

par
Gérard MERMET

Soutenue le 20 octobre 1989 devant le jury composé de :

MM. J. CROUZET

**E. CROS
P. DELEST
R.FELLOUS
H.RICHARD**

A mon Père...
A ma Mère...

Les recherches présentées dans ce mémoire ont été menées à Montpellier, au C.I.R.A.D, au sein du laboratoire de chimie-technologie de l'Institut de Recherche du Café et du Cacao.

A Monsieur Philippe DELEST, Directeur des Recherches chez SANOFI BIO-INDUSTRIES qui m'a témoigné sa confiance, en finançant ces travaux, j'exprime toute ma gratitude.

J'adresse toute ma reconnaissance à Monsieur Jean CROUZET, professeur à l'Université de Montpellier, pour avoir accepté la direction scientifique de ces recherches.

Je remercie sincèrement Monsieur Jean-Claude VINCENT, Responsable du laboratoire de chimie-technologie de l'I.R.C.C, d'avoir bien voulu m'accueillir et m'accorder son attention aux moments importants durant ces quatre années.

Je remercie également Monsieur Robert FELLOUS, professeur à l'Université de Nice, et Monsieur Hubert RICHARD, professeur à l'ENSIA à Massy, qui m'ont fait l'honneur de participer à ce jury, d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse.

A Emile CROS pour ton initiation à la recherche, tes critiques, tes encouragements et beaucoup d'autres choses... pendant ces années passées ensemble, je t'adresse tous mes remerciements et toute ma sympathie.

J'exprime mes vifs remerciements à Monsieur Gérard GEORGE, Directeur Recherches Arômes chez SANOFI BIO-INDUSTRIES, pour son aide technique et ses conseils.

Je tiens à remercier Jacques BROUAT pour son assistance graphique à la réalisation de ce mémoire.

Je remercie tous les membres du laboratoire, avec lesquels il m'a été agréable de travailler, pour leur aide, avec une pensée particulière et amicale pour Fabrice et Jean-Claude.

Enfin j'exprime toute mon affection et ma reconnaissance à mes grand-parents, ma tante et mon oncle, pour leur aide matérielle sans laquelle je n'aurais pu entreprendre ces longues études.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le cacao occupe une place stratégique au sein de l'univers agro-alimentaire et ceci à double titre.

Au niveau économique, il se place au troisième rang des exportations agricoles après le café et le sucre : le marché du cacao représente une masse monétaire de 25 milliards de francs. La production mondiale en fèves de cacao pour 1987/1988 et de 2 095 000 tonnes (estimation OICC 1988).

Avec 625 000 tonnes, la République de Côte d'Ivoire est le premier producteur mondial, devant le Brésil et la Malaisie. La France pour sa part importe 120 000 tonnes de cacao et de produits dérivés (beurre, tourteau, poudre, liqueur) dont 43 000 tonnes de fèves. A la base de ce négoce, on trouve généralement une structure artisanale qui assure une production très hétérogène.

Dans l'industrie agro-alimentaire, il est à la base de nombreux traitements technologiques permettant l'obtention d'un produit fini. Le cacao constitue non seulement la matière première pour la confection du chocolat et des produits dérivés, mais aussi pour l'aromatization ou le fourrage d'un grand nombre de préparations alimentaires (confiserie, biscuiterie, pâtisserie, boissons, produits frais, glaces, dentifrice, agent de sapidité dans les cigares, etc...)

Au troisième rang de la C.E.E après le Royaume-Uni et l'Allemagne fédérale, en 1987 la France a produit 284 500 tonnes de produits finis de chocolaterie, représentant un chiffre d'affaire de 11 milliards de francs (la consommation moyenne par habitant est de 5,1 kg). La même année, la multinationale agro-alimentaire suisse NESTLE a réalisé un chiffre d'affaire de 141 milliards, dont 11 milliards en produits de chocolaterie.

Aussi il est difficile d'imaginer les conséquences sur l'univers agro-alimentaire, si la "saveur chocolat" propre au cacao venait à disparaître; d'autant plus que les meilleurs chimistes du monde seraient bien en peine pour lui trouver un substitut.

En effet une des caractéristiques fondamentales du cacao est son arôme singulier et inimitable. L'arôme du cacao torréfié est trop complexe pour être imité fidèlement, et les arômes de synthèse réalisés à ce jour, se sont révélés être de mauvaises reproductions. Cette complexité est due essentiellement au nombre élevé de produits volatils qui le composent.

A la source de cet arôme se trouve un arbre de 6 à 8 mètres de haut, originaire d'Amérique centrale : le cacaoyer. Le fruit du cacaoyer, appelé cabosse, de forme ovale, pèse entre 300 grammes et 1 kilogramme.

Il contient 20 à 60 fèves, fournissant en moyenne 40 grammes de cacao marchand, (fève fermentée et séchée). Cette fève constitue la matière première de l'industrie chocolatière.

Sa composition chimique est essentiellement représentée par les lipides (50 % de poids sec), les sucres (fructose, glucose, saccharose), les acides aminés essentiellement sous forme protéique, les acides organiques (acétique, citrique, oxalique), les xanthines (théobromine, caféine) et les composés phénoliques.

L'arôme cacao est si important dans l'agro-alimentaire que de plus en plus de sociétés s'y intéressent. Le souci majeur de tous les chocolatiers est d'obtenir avec une matière première donnée, un cacao torréfié possédant l'arôme le plus développé possible. De la même façon, les aromaticiens rêvent de posséder un arôme cacao de qualité dans leur catalogue. Deux alternatives leurs sont offertes : un arôme artificiel, généralement médiocre, ou un arôme naturel obtenu à partir de l'extraction des constituants volatils du cacao torréfié.

On peut se demander s'il n'est pas possible de mieux utiliser le potentiel aromatique des fèves de cacao, afin de produire un arôme qualitativement comparable, mais quantitativement plus important.

Notre travail tente de répondre à deux questions : peut-on augmenter la formation de l'arôme en maîtrisant mieux le traitement technologique; peut-on produire un arôme plus important grâce à l'apport de précurseurs d'arôme naturels ?

La réalisation de cet objectif passe par une meilleure connaissance des précurseurs conduisant à l'arôme cacao, et des phénomènes pendant la torréfaction.

Nous avons étudié la contribution de certains précurseurs à la formation de l'arôme cacao, sur des systèmes modèles et sur des cacaos fermentés et non fermentés.

Ensuite nous nous sommes intéressés à l'influence de la torréfaction sur le développement de cet arôme en suivant particulièrement la consommation des précurseurs, et parallèlement l'évolution de constituants majeurs de l'arôme cacao, qui sont les aldéhydes et les pyrazines.

Pour conclure cette étude, nous avons essayé différentes solutions pour augmenter la teneur en précurseurs dans le cacao, afin de produire plus de composés aromatiques pour l'obtention d'un arôme plus développé.

CHAPITRE I

GENERALITES – BIBLIOGRAPHIE

I - GENERALITES - BIBLIOGRAPHIE

L'arôme cacao est constitué de 483 composés identifiés à ce jour :

55 acides, 27 alcools, 27 aldéhydes, 25 cétones, 58 esters, 19 furannes, 50 hydrocarbures, 97 pyrazines, 21 pyrroles, 10 quinoxalines, 10 pyridines, 150 oxazoles, 8 thiazoles, 10 phénols, 2 pyrones, 1 quinoléine, 16 composés soufrés, 12 composés azotés, 6 lactones, 13 éthers (voir liste détaillée annexe I).

La flaveur du cacao torréfié résulte de la combinaison d'un grand nombre de substances odoriférantes et gustatives dans des proportions infinitésimales. Elle se décompose en plusieurs points ayant des sources différentes (BROWN 1957) :

- la flaveur de base (pyrazines, aldéhydes)
- le fruité (esters)
- l'astringence (polyphénols)
- l'amertume (purines)
- la flaveur "noisette" (complexes polypeptides-phénols, pyrazines)
- la flaveur "miel".

1 - Développement de l'arôme cacao au cours des différentes phases technologiques

Le développement de l'arôme cacao dépend des opérations suivantes :

- la fermentation et le séchage des fèves au cours desquels sont formés les précurseurs non volatils de l'arôme
- la torréfaction du cacao qui permet à l'arôme de se développer à partir de ses précurseurs.

1.1. La fermentation

Après récolte, les cabosses sont brisées et vidées de leur contenu. Les fèves entourées d'une pulpe mucilagineuse sont rassemblées et mises à fermenter. La conduite de la fermentation varie selon les régions de production, l'importance de la masse mise en jeu, la variété de cacao. Les fèves de cacao fermentent en moyenne entre 4 et 7 jours pour les variétés Forastero et Trinitario, alors que le Criollo nécessite 2 à 3 jours de fermentation (ROELOFSEN 1958, ROHAN 1958a). Les fèves sont mises à fermenter en tas à même le sol, ou en caisses en bois, au fond troué pour permettre l'écoulement des jus. A noter qu'il existe des tentatives d'industrialisation du procédé.

Cependant toutes les techniques de fermentation se déroulent selon le même principe. La fermentation comporte deux phénomènes distincts :

- une fermentation microbienne de la pulpe,
- un ensemble de réactions biochimiques internes aux cotylédons, lesquelles conduisent :
 - à l'élimination de la pulpe mucilagineuse,
 - à la suppression du pouvoir germinatif de l'embryon,
 - à la modification de la composition chimique de la fève et en particulier à la formation des précurseurs d'arôme.

A l'origine, le mucilage et les fèves sont stériles, les micro-organismes responsables de la fermentation sont apportés par le milieu ambiant (ROELOFSEN 1958, ROHAN 1961, BRAUDEAU 1969, OSTOVAR et KEENEY 1975, GAUTHIER et al. 1977). L'abondance de la pulpe mucilagineuse crée des conditions anaérobies favorables au développement des levures. Celles-ci vont, au cours d'une fermentation alcoolique exothermique :

- dégrader les sucres fermentescibles (glucose, fructose) en éthanol et gaz carbonique. La teneur maximale en éthanol est atteinte le deuxième jour (DE WITT 1957, FORSYTH et QUESNEL 1963) ;
- provoquer une élévation du pH par consommation de l'acide citrique (ROHAN 1961, LOPEZ 1972, QUESNEL 1968 et 1972) ;

- causer la rupture des parois cellulaires de la pulpe par pectinolyse.

Ces nouvelles conditions, vers le deuxième jour, favorisent le développement de bactéries lactiques anaérobies. L'action pectinolytique de ces micro-organismes parachève la destruction de la structure cellulaire de la pulpe.

Le drainage des jus résultants et le brassage facilitent l'aération de la masse : les bactéries acétiques colonisent le milieu. C'est le début de la phase aérobie. L'éthanol est oxydé en acide acétique. La température de la masse augmente encore, et atteint son maximum à 50°C le quatrième jour (CHONG et al. 1978, FORSYTH et QUESNEL 1963). L'acide acétique formé diffuse à l'intérieur des fèves.

Toutes ces conditions, 48 à 60 heures, après le début de la fermentation, provoquent la mort de l'embryon et des modifications de perméabilité membranaire des cotylédons (ROHAN 1958b, ROHAN 1961, QUESNEL 1965 et 1972, MORETON 1985). Ces modifications permettent aux substances hydrosolubles de rentrer en contact avec les enzymes (ROELOFSEN 1958, BIEHL et al. 1982 a et b) et conduisent au déclenchement de nombreuses et diverses réactions biochimiques internes aux cotylédons.

Ces réactions aboutissent à la synthèse de deux types de composés impliqués dans l'arôme cacao :

- les précurseurs d'arôme qui participent aux réactions de brunissement thermique,
- quelques composés aromatiques du cacao (aldéhydes, pyrazines, acides carboxyliques volatils), ainsi qu'à la profonde modification de la composition phénolique.

La formation des précurseurs d'arôme débute pendant la phase anaérobie. Les premiers jours de la fermentation, la quantité d'acides aminés sous forme libre augmente, particulièrement la teneur en leucine, phénylalanine, valine et tyrosine (SEIKI 1973). Les protéases hydrolysent les protéines du cotylédon en peptides et en acides aminés (DE WITT 1957, ROHAN 1964, BAREL 1982, BIEHL et PASSERN 1982, BIEHL et al. 1982c). La teneur maximale en acides aminés est atteinte le quatrième jour (DE WITT 1957, SEIKI 1973, BAREL 1982).

L'hydrolyse des polyosides et du saccharose conduit à des sucres réducteurs : le fructose et le glucose. Dans les fèves bien fermentées, la teneur en fructose est nettement supérieure à celle du glucose, alors qu'elles sont équivalentes pour des fèves mal fermentées (REINECCIUS et al. 1972).

La teneur maximale en sucres réducteurs est atteinte le quatrième jour, reste constante, puis décroît légèrement en fin de fermentation (BRACCO et al. 1969).

Selon FORSYTH et QUESNEL (1963), les phénomènes oxydatifs débutent sous l'action des polyphénoloxydases pendant la phase aérobie, et l'oxydation des polyphénols conduit à la formation d'ortho-quinones. Cependant VILLENEUVE et al. (1985) ont montré que l'activité résiduelle oxydasique est très faible après deux jours de fermentation. La teneur en phénols diminue de 70% entre un cacao fermenté et non fermenté (CROS et al. 1982, VILLENEUVE 1982). Leur diminution entraîne la baisse de l'astringence des fèves de cacao. Ces polyphénols oxydés peuvent s'associer aux protéines pour donner des complexes insolubles : c'est le phénomène de tannage (HASLAM 1979).

Parallèlement, les purines (caféine et théobromine) en diffusant vers l'extérieur des cotylédons, abaissent l'amertume des fèves.

La surfermentation nuit au potentiel aromatique, les précurseurs étant consommés par les micro-organismes (BIEHL et al. 1985). D'autre part, il y a formation de composés préjudiciables à l'arôme (odeur de putréfaction) (FORSYTH et QUESNEL 1963, BIEHL 1984).

Certains composés majeurs de l'arôme, tels que les aldéhydes et les alkyl pyrazines sont formés en quantité non négligeable pendant la fermentation. Des acides gras libres et des composés carbonylés sont synthétisés par les micro-organismes (LOPEZ et QUESNEL 1973, HANSEN 1976).

Les alkyl pyrazines sont présentes dans de nombreux produits alimentaires fermentés (KOSUGE et KAMIYA 1962, KOSUGE et al. 1969 et 1971, LATRASSE et al. 1985). Selon GILL et al. (1984b) la triméthyl pyrazine a une origine thermique. Quant à la tétraméthyl pyrazine, son origine est controversée : elle est thermique selon ROHAN (1963a) ; microbienne selon OSTOVAR (1971), ZAK et al. (1972) ; ou provient selon RIZZI (1988) de réactions non enzymatiques entre l'ammoniaque et l'hydroxy-3 butano-2, issus du métabolisme de la fève de cacao.

1.2. Le séchage

Le séchage des fèves conduit au cacao marchand. En général solaire, il s'effectue à une température inférieure ou égale à 60°C, et permet d'amener la teneur en eau des fèves de 60% à 5-7%. La durée est variable selon la technique utilisée :

- le séchage solaire, gratuit en énergie, est progressif, mais présente l'inconvénient d'être long et de dépendre des conditions météorologiques ;
- le séchage artificiel, par courant d'air chaud, est plus rapide, mais donne un cacao plus acide.

Cette opération permet d'empêcher la surfermentation des fèves, génératrice de mauvais goûts et odeurs, et d'assurer un bon stockage du produit marchand (PONTILLON 1984).

Durant le séchage, certaines modifications chimiques continuent de se produire au niveau du cotylédon :

- la réduction de la teneur en acide acétique par évaporation,
- l'oxydation des polyphénols (FORSYTH et QUESNEL 1963),
- la poursuite de l'hydrolyse des protéines,
- la synthèse d'aldéhydes par des réactions de type STRECKER (ZIEGLEDER 1982 b).

Lors du séchage, FORSYTH et QUESNEL (1963) émettent l'hypothèse que les quinones résultantes de l'oxydation de certains polyphénols réagissent avec des acides aminés pour donner des α céto-acides. Instables sous l'effet de la chaleur, ils conduisent à la formation d'aldéhydes.

Cette hypothèse explique la présence d'isobutyraldéhyde et d'isovaléraldéhyde dans les cacao bien fermentés (ZIEGLEDER 1981 et 1982, BIEHL et al. 1985).

1.3. La torréfaction

Quelle que soit la technique de torréfaction utilisée par le chocolatier (durée, température, nature de l'échantillon, matériel), elle permet le développement de l'arôme cacao, à partir des précurseurs formés lors de la fermentation et du séchage.

Les principales réactions chimiques intervenant pendant la torréfaction sont :

- les réactions de Maillard,
- la caramélisation des sucres,
- la dégradation des protéines,
- la synthèse de composés soufrés (réactions mineures).

NURSTEN (1981) classe les produits de réactions de Maillard en trois grandes familles :

- 1 - les produits simples de déshydratation ou fragmentation des sucres : les furannes, les pyrones, les cyclopentènes, les composés carbonylés, les acides ;
- 2 - les produits simples de dégradation des acides aminés : les aldéhydes (dégradation de Strecker), certains composés soufrés ;
- 3 - les produits résultants de réactions plus avancées : les pyrroles, les pyridines, les imidazoles, les pyrazines, les oxazoles, les thiazoles, les composés d'aldocondensation (aldéhydes à point d'ébullition élevé).

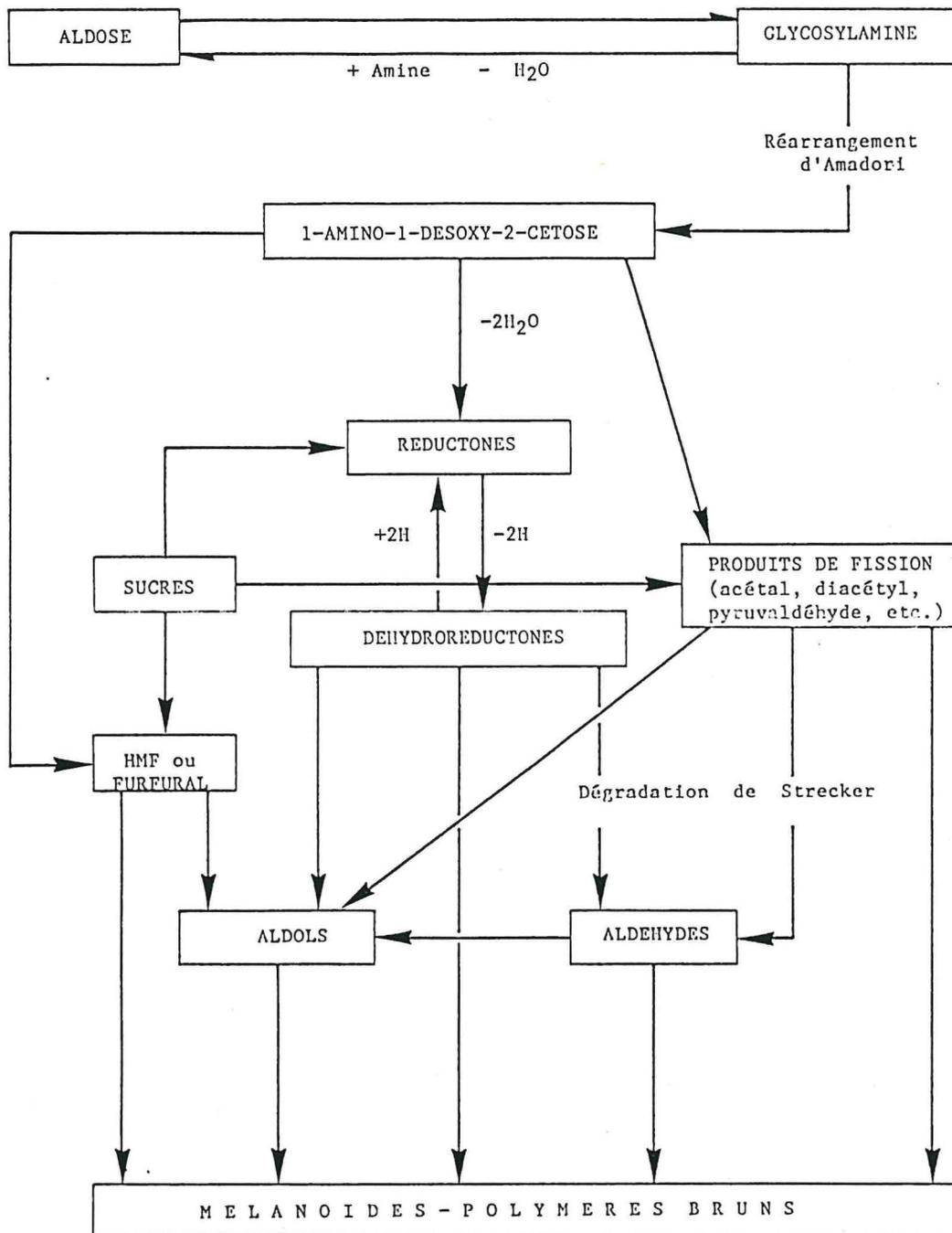


figure 1 : Schéma simplifié de la réaction de Maillard (HODGE 1953).

La condensation des sucres réducteurs avec les acides aminés est la première étape de la réaction de Maillard (figure 1). Pendant la torréfaction, une diminution de la quantité de ces composés est observée (PINTO et CHICHESTER 1966, ROHAN et STEWART 1966 a,b, et 1967). MOHR et al. (1971, 1976) ont mis en évidence la participation d'oligopeptides aux modifications spécifiques de grillage.

Le réarrangement d'Amadori est une étape-clé ; les composés d'Amadori peuvent conduire à la formation de céto-aldéhydes, de composés dicarboxylés, et de composés de type furaldéhyde-2 (HODGE 1967).

La dégradation de Strecker, autre voie importante de la réaction de Maillard, est une désamination oxydative des acides aminés en aldéhydes par les composés α dicarboxylés, formés lors de la décomposition des composés d'Amadori. Ce schéma réactionnel a été mis en évidence en utilisant comme précurseurs des acides aminés marqués (DARSLLEY et QUESNEL 1972).

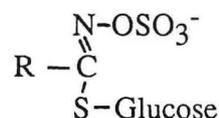
Ces différentes voies conduisent à la formation d'hétérocycles azotés, soufrés, oxygénés, notamment les pyrazines, composés jouant un rôle important dans l'arôme cacao (figure 2).

Un grand nombre de composés aliphatiques et cycliques provient de la caramélisation des sucres (LOPEZ 1972). La fragmentation des polyosides par des processus d'oxydo-réduction conduit à la formation de dicétones cycliques, de divers composés dicarboxylés participant à la dégradation de Strecker, d'acides carboxyliques, ainsi que d'aldéhydes et de cétones saturés et insaturés (LOPEZ 1972).

Le saccharose pyrolysé donne des composés volatils très variés : méthanol, acétaldéhyde, benzaldéhyde, acétone, acroléine, acide formique, acide acétique, furfural, glycéraldéhyde (HODGE 1953).

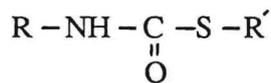
Le grillage des protéines conduit à la formation de dicétopypérazines, pour une température supérieure à 100°C, responsables de la saveur amère du cacao torréfié (PICKENHAGEN et al. 1975, NEY 1986), ainsi qu'à l'hydrolyse thermique des liaisons peptidiques des protéines, menant à la formation de peptides, responsables du goût de protéine grillée (CHEFTEL et al. 1985).

Les composés soufrés de l'arôme cacao, formés à la torréfaction proviendraient de la dégradation des glucosinolates (HOSKIN et DIMICK 1984).



Les glucosinolates n'ont jamais été isolés dans le cacao, seuls les produits de leur dégradation laissent présager de leur existence. Les glucosinolates sous l'action d'une glucosinolase (SHANKARANARAYNA et al. 1974) ou d'une myrosinase (VIRTANEN 1965), par un réarrangement de Lossen, conduisent à des isothiocyanates. Sous l'effet de la chaleur, ces isothiocyanates peuvent donner des nitriles et des thiocyanates (HOSKIN et DIMICK 1984).

A leur tour, les thiocyanates conduisent à des alcools (voie majeure), ou bien à la formation des dithiocarbamates (voie mineure).



Les dithiocarbamates donnent des amines et des disulfides. Ces derniers conduisent par réarrangement à des mono et des trisulfides (SCHÜTTE 1974).

Dans le cacao, la présence d'isothiocyanate et de thiocyanate d'isobutyle, de phénylacétonitrile, de thiocyanate et d'isothiocyanate de benzyle, laisse supposer l'existence du glucosinolate d'isobutyle et du glucosinolate de benzyle (GILL et al. 1984a).

La formation de mercaptans résulte de la dégradation de Strecker des acides aminés soufrés (LOPEZ et QUESNEL 1974).

1.4. Remarque

Le broyage du cacao torréfié conduit à la liqueur de cacao (figure 3). On ajoute du sucre et du beurre de cacao à cette liqueur, qui est ensuite raffinée jusqu'à l'obtention de la granulométrie désirée. Cette masse après l'opération de conchage devient du chocolat en pâte, destiné au moulage. C'est pourquoi il ne faut pas confondre l'arôme du cacao torréfié et du chocolat qui sont des produits différents. L'arôme du chocolat est moins riche et moins intense.

1.5. Le conchage

Le conchage consiste en une agitation intense et une aération de la pâte de chocolat, effectuée entre 70 et 90°C, pendant plusieurs dizaines d'heures.

Il intervient sur l'arôme de façon complémentaire à la torréfaction en modifiant le profil aromatique (élimination par évaporation principalement de l'acide acétique et des composés volatils indésirables pour le goût).

Sur le plan rhéologique, le conchage consiste à passer d'une structure hétérogène et dispersée, à une structure dans laquelle les particules non grasses constituent une dispersion dans une phase lipidique continue.

Cette modification de structure permet de donner l'onctuosité au chocolat.

Pendant le conchage, la teneur en eau passe de 1,5% à 0,2%. Des modifications chimiques interviennent dans la pâte de chocolat.

Certains auteurs notent la baisse des composés volatils, à point d'ébullition bas (esters, aldéhydes, cétones, alcools) (ZORZUT et CHICHESTER 1971, MANIERE et DIMICK 1979). MEILI (1985) observe une diminution de 20% des composés volatils après conchage.

BONAR et al. (1968) enregistrent une diminution des sucres réducteurs, ZIEGLEDER et SANDMEIER (1982) des acides aminés de 15% et signalent l'apparition de méthyl-3 butanal. Ils concluent à la poursuite de la dégradation de Strecker des acides aminés pendant le conchage.

HOSKIN (1982) ne relève aucune différence significative au niveau des teneurs en acides aminés entre un chocolat conché et non conché.

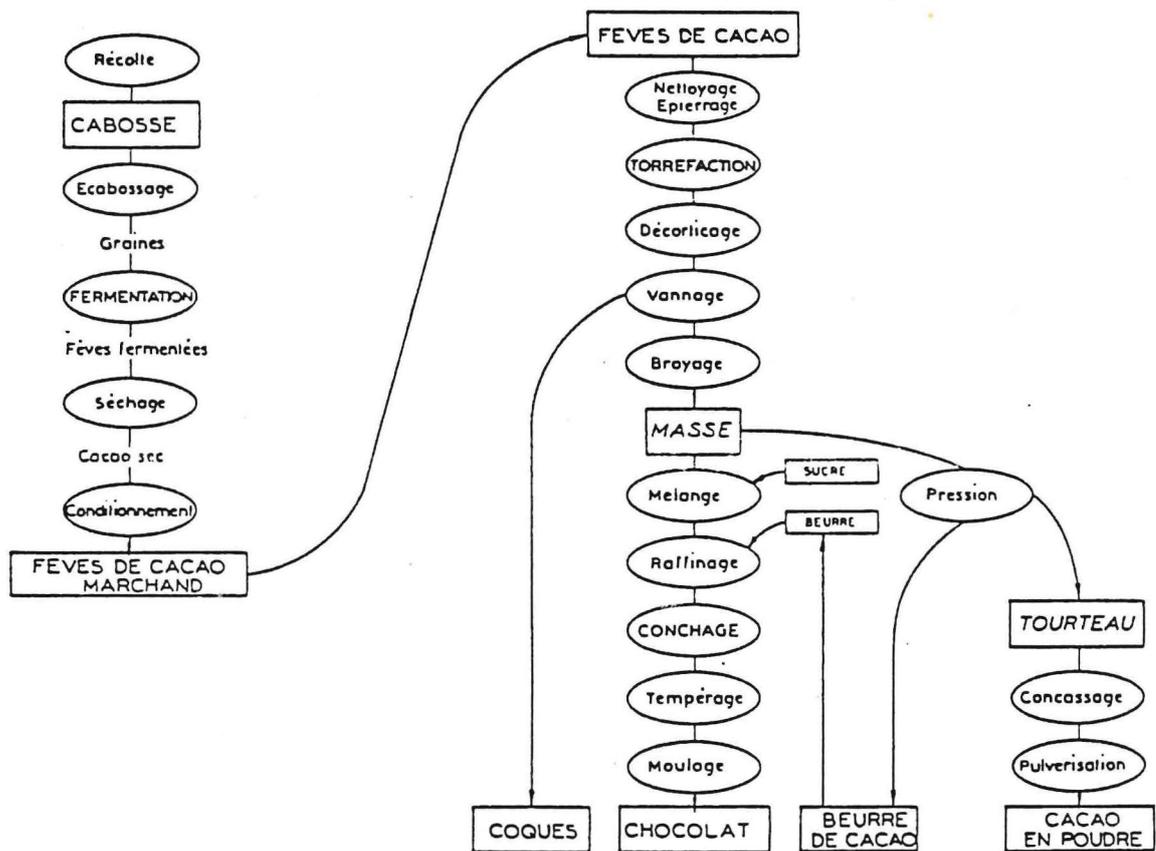


figure 3 : Les différentes étapes technologiques de la fabrication des produits de la chocolaterie.

2 - Quelques données bibliographiques sur les précurseurs d'arôme

2.1. Distribution des précurseurs dans le cacao

La distribution des acides aminés (WOLF 1958, ROHAN et STEWART 1965, MARAVALHAS 1972) et des sucres (ROHAN 1964, KEENEY 1972, REINECCIUS et al. 1972) a été étudiée dans différentes variétés de cacao (tableaux 1 et 2). Les précurseurs sont présents indépendamment de l'origine géographique ; leur différence de concentration relative dépend de la récolte, de la fermentation et du séchage.

La composition phénolique entre le cacao fermenté et non fermenté a été étudiée, leur différence explique le potentiel aromatique d'un cacao fermenté (ROHAN 1963b, 1964 et 1969, ROHAN et CONNELL 1964). Selon ROHAN (1963a, 1964 et 1969), l'épicatéchol est un précurseur de l'arôme cacao, d'après LOPEZ et QUESNEL (1971) ce composé n'est pas un précurseur.

Tableau 1 : Composition en sucres (g/100g) de fèves de cacao non torréfiées de différentes origines (REINECCIUS et al. 1972).

sucres	SANCHEZ	ARRIBA	BAHIA	GHANA
Pentitol	0,044	0,060	0,035	0,025
<u>Fructose</u>	0,360	0,290	0,684	0,489
<u>Sorbose</u>	0,044	0,044	0,128	0,052
<u>Glucose</u>	0,343	0,186	0,043	0,070
Mannitol	0,040	0,030	0,280	0,076
Inositol	0,030	0,020	0,055	0,020
Saccharose	0,994	0,684	0,055	0,120
Sucres réducteurs	0,747	0,520	0,855	0,611
Total sucres	1,855	1,314	1,280	0,852

Tableau 2 : Teneur en acides aminés libres (g/100g) dans des fèves fermentées dégraissées de différentes origines (MARAVALHAS 1972).

Acides aminés	Bahia	Catongo
Lysine	0,204	0,185
Histidine	0,026	0,028
Arginine	0,134	0,125
Acide aspartique	0,325	0,307
Thréonine	0,074	0,057
Sérine	0,101	0,096
Acide glutamique	0,190	0,184
Proline	0,092	0,097
Glycine	0,074	0,060
Alanine	0,154	0,156
Valine	0,083	0,100
Méthionine	0,026	0,019
Isoleucine	0,067	0,078
Leucine	0,307	0,281
Tyrosine	0,116	0,117
Phénylalanine	0,228	0,222
Total	2,201	2,112

2.2. Précurseurs et arôme

HERZ et SHALLENBERGER (1960), ROHAN (1969), LOPEZ et QUESNEL (1971) ont montré que la torréfaction de mélanges simples de sucres et d'acides aminés conduit à un arôme cacaoté bien que différent de l'arôme naturel.

De nombreux travaux concernent l'identification des produits de dégradation thermique de systèmes modèles sucres-acides aminés (SHIGEMATSU et al. 1972, KATO et al. 1973 et 1982, SHIBAMOTO et RUSSELL 1976, HARTMAN et HO 1984, HAYASE et al. 1985, SHU et al. 1985), et plus particulièrement la phénylalanine (SOULEYMANE et CROUZET 1981, MEVISSSEN et BALTES 1983, WESTPHAL et al. 1984, BALTES et MEVISSSEN 1988), la valine et la leucine (LIEN et NAWAR 1974).

ARNOLDI et al. (1987) ont montré que la vitesse de la dégradation de Strecker pour la leucine et la valine était plus élevée dans un système beurre de cacao-eau que dans l'eau. En présence de beurre de cacao, et en l'absence de sucres, ces deux acides aminés conduisent à la formation d'aldéhydes. Ils en concluent à la participation du beurre de cacao dans la formation de l'arôme.

Les données bibliographiques concernant l'évolution des sucres et des acides aminés pendant la torréfaction sont anciennes et partielles (PINTO et CHICHESTER 1966, ROHAN et STEWART 1966 a, b et 1967) et inexistantes pour les composés phénoliques. Ces auteurs ont étudié principalement la consommation de mélanges synthétiques de précurseurs ou d'extraits de précurseurs de cacao.

Des études analogues ont été réalisées sur l'arachide (NEWELL et al. 1967) et sur les céréales (orge, blé, seigle) (KAMINSKI et al. 1981).

3 - Présentation des composés volatils étudiés

Les aldéhydes et les pyrazines sont principalement formés pendant les réactions de Maillard et sont caractéristiques des produits subissant un traitement thermique. Les pyrazines sont les composés les plus étudiés de l'arôme cacao, car elles sont considérées comme de bons marqueurs du niveau de torréfaction. De plus, l'abondance relative des pyrazines et des aldéhydes dans le cacao torréfié facilite leur dosage.

3.1. Les alkyl pyrazines

Les conditions de formation des alkyl pyrazines ont été étudiées à partir de systèmes modèles par de nombreux auteurs (KOEHLER et al. 1969, KOEHLER et ODELL

1970, RIZZI 1972 et 1988, SHIBAMOTO et BERNHARD 1976, WANG et ODELL 1978, SHIBAMOTO et al. 1979, WONG et BERNHARD 1988).

Ces composés ont été identifiés dans un grand nombre de produits alimentaires cuits (MAGA et SIZER 1973, GALLOIS 1984) ; leur seuil de perception très bas est variable selon les sources consultées (FORS 1983, ZIEGLER 1983, FORS et OLOFSSON 1985, SHIBAMOTO 1986).

Dans le cacao, les méthyl pyrazines sont les composés majeurs (DIETRICH et al. 1964, FLAMENT et al. 1967, RIZZI 1967, VAN PRAGG et al. 1968, REINECCIUS et al. 1972, VIZTHUM et al. 1975) (voir annexe II).

Tableau 3 : Méthyl pyrazines identifiées dans les produits alimentaires ayant subi un traitement thermique.

Produits	méthyl-2	diméthyl-2,5	diméthyl-2,6	diméthyl-2,3	triméthyl	tétraméthyl	Auteurs
amande	•	•	•		•		TAKEI et YAMANISHI 1974, TAKEI et al. 1974
café	• • •	• •	•	• •	•	• •	VIANI et al. 1965 REYMOND et al. 1966 STOFFELMA et al. 1968 FRIEDEL et al. 1971
caséine	•						KATO et al. 1972
COCO (noix)		•			•		SAITTAGAROON et al. 84
malt (extrudé)	•	•	•		•		FORS 1987
noisette		•	•	•	•	•	KINLIN et al. 1972
orge	•	•			•		WANG et al. 1969
pain (croûte)					•		SCHIEBERLE et GROSCH 1987
riz	•	•	•	•	•		YAJIMA et al. 1978
sésame	•	•		•	•		SOLIMAN et al. 1975

3.2. Les aldéhydes

Les aldéhydes à bas point d'ébullition proviennent de la dégradation de Strecker des acides aminés, les aldéhydes à point d'ébullition élevé de réactions d'aldolcondensation (tableau 4).

Tableau 4 : Origine de la formation des aldéhydes (voir structure Annexe III).

Source	Aldéhydes
valine (DARSLEY et QUESNEL 1972)	méthyl-2 propanal (isobutyraldéhyde)
leucine (DARSLEY et QUESNEL 1972)	méthyl-3 butanal (isovaléraldéhyde)
phénylalanine (DARSLEY et QUESNEL 1972)	phénylacétaldéhyde
aldolisation acétaldéhyde et phénylacétaldéhyde (ZIEGLEDER 1983)	phényl-2 butène-2 al
aldolisation méthyl-3 butanal et phénylacétaldéhyde (ZIEGLEDER 1983)	méthyl-5 phényl-2 hexène-2 al
pyrolyse du saccharose (HODGE 1953) ou phénylalanine (SOULEYMANE et CROUZET 1981)	benzaldéhyde

Ces composés ont été décrits dans des produits alimentaires cuits ou fermentés (tableau 5).

L'isobutyraldéhyde et l'isovaléraldéhyde ont été dosés par ZIEGLEDER (1981, 1982b) dans le cacao non torréfié en fonction de la provenance (tableau 6), le même auteur indique que la teneur de ces composés augmentait avec la température de torréfaction (tableau 7). Ces données sont partielles.

Tableau 5 : Aldéhydes identifiés dans des produits alimentaires fermentés ou ayant subi un traitement thermique.

Produits	méthyl-2 propanal	méthyl-3 butanal	benzaldéhyde	phénylacé- taldéhyde	phényl-2 butène-2 al	méthyl-5 phényl-2 hexène-2 al	Auteurs
café	• • •	• • •	•				VIANI et al 1965 REYMOND et al. 1966 STOFFELMA et al. 1968 FRIEDEL et al. 1971
caséine			•				KATO et al. 1972
amande			•		•		TAKEI et al.1974
noisette	•	•	•	•	•	•	KINLIN et al. 1972
pain (croûte)		•	•	•			SCHIEBERLE et GROSCH 1987
riz	•	• •	• •				YAJIMA et al. 1978 TSUGITA et al. 1980
sésame			•				SOLIMAN et al. 1975
thé noir (fermenté)	•	•	• •	• • •			YAMAGUSHI et SHIBAMOTO 1981 CLOUGHLEY et al.1982 TOKIMOTO et al. 1984 OWNOR 1986

Tableau 6 : Teneur en isovaléraldéhyde de cacao fermentés non torréfiés
(en mg/kg) (ZIEGLER 1982 b).

Origine	teneur moyenne
Ghana	10
Nigéria	8,4
Lome	7,9
Arriba	10,1
Vénézuela	8,4
Trinidad	8,2
Bahia	7,3
Catongo	10,2
Costa-rica	6,3
Sanchez	2,5
Java	10,1
Malaisie	4,5
Samoa	5,0

Tableau 7 : Teneur en aldéhydes en fonction de la température de torréfaction (mg/kg)
(ZIEGLER 1982 b).

Torréfaction	Isovaléraldéhyde	Isobutyraldéhyde
fèves de cacao fermentées non torréfiées	9 - 14	3 - 7
fèves de cacao, nibs fermentés		
- légèrement torréfiés (110°, 120°)	15 - 30	7 - 20
- moyennement torréfiés	20 - 60	15 - 35
- fortement torréfiés (150°, 160°)	>70	>30
fèves cacao, peu ou non fermentées		
- non torréfiées	0 - 6	0 - 2
- torréfaction moyenne	4 - 10	10 - 20

CHAPITRE II

MATERIELS et METHODES

II - MATERIELS ET METHODES

1- Caractéristiques des échantillons

1.1. Cacao

Plusieurs lots de cacao ont été utilisés au cours de ce travail, des lots de cacao hybride et Amelonado pour des essais préliminaires (chapitre III, chapitre IV paragraphe 1), et un lot unique Amelonado Côte d'Ivoire pour étudier la consommation des précurseurs, le développement de l'arôme et la supplémentation des nibs de cacao en précurseurs d'arôme (chapitre IV paragraphes 2 et 3, chapitre V).

1.2. Nibs

Les nibs sont des fèves de cacao grossièrement broyées et décortiquées.

1.3. Torréfaction

Les nibs sont torréfiés dans une étuve ventilée (type MEMMERT). Les durées et les températures sont variables.

1.4. Préparation de la poudre

Les nibs de cacao, congelés dans l'azote liquide, sont broyés dans un moulin à hélice. Les poudres de nibs torréfiés sont conservées à - 18°C.

2. Techniques d'extraction et d'analyse des précurseurs d'arôme

2.1. Extraction des acides aminés

La poudre est délipidée à l'hexane, pendant 8 heures à l'appareil de Soxhlet.

2.1.1. Acides aminés libres

2 g de poudre de cacao délipidé sont extraits par 30 ml de tampon citrate de sodium pH 2,2, pendant 3 heures. L'extrait est centrifugé, filtré, complété à 100 ml par le tampon, puis filtré sur membrane de porosité 0,45 µm.

2.1.2. Acides aminés totaux (BAREL 1982)

L'hydrolyse des protéines est effectuée directement sur 100 mg de poudre délipidée.

Elle est réalisée avec de l'acide chlorhydrique 6N pendant 24 heures, à 110°C, sous atmosphère d'azote.

L'hydrolysate est filtré, évaporé à sec à l'évaporateur rotatif de type Büchi, puis repris par 10 ml de tampon citrate de sodium pH 2,2.

2.2. Extraction des sucres

10 g de poudre de cacao dans 100 ml d'éthanol aqueux (80%) sont portés à reflux, sous agitation magnétique, pendant 1 heure. La solution est filtrée, l'opération est renouvelée sur le résidu. Les deux filtrats sont réunis. L'extrait est clarifié avec 2 ml de solution de Carrez I et 2 ml de solution de Carrez II.

Solution de Carrez I : 75 g d'hexacyanoferrate de potassium trihydraté dans 500 ml d'eau.

Solution de Carrez II : 150 g d'acétate de zinc déshydraté dans 500 ml d'eau.

L'extrait est filtré, puis concentré à l'évaporateur rotatif, puis ramené à 10 ml, centrifugé et filtré sur membrane de porosité 0,45 µm.

Remarque : pour le dosage par voie enzymatique, le mode opératoire présente une variante. L'extrait est concentré à l'évaporateur rotatif, puis ramené à 50 ml, mis sous agitation lente avec 5 g de P.V.P. (polyvinylpyrrolidone) à pH 3,5, pendant 10 minutes pour éliminer les composés phénoliques de l'extrait.

2.3. Extraction des procyanidols

2 g de poudre de cacao sont mis sous agitation magnétique, 30 minutes, avec 100 ml de méthanol acide (1% d'acide formique) (BASTIDE 1987). La solution est filtrée, l'opération est renouvelée sur le résidu. Les 2 filtrats sont réunis. L'extrait est concentré à l'évaporateur rotatif, puis ramené à 50 ml, et filtré sur membrane de porosité 0,45 µm.

2.4. Dosage des acides aminés

Les acides aminés sont dosés par chromatographie liquide haute performance par dérivation pré-colonne à l'OPA (orthophthaldialdéhyde) (HURST et MARTIN 1980, ISHIDA et al. 1981, JONES et al. 1981, WINSPEAR et OAKS 1983, DONG et GANT 1985).

Matériels : Système de Gradient BECKMAN 320 ; passeur d'échantillon S.E.D.E.R.E. ; fluorimètre RF-530 Shimadzu ; Intégrateur CR 3-A Shimadzu.

Conditions chromatographiques :

- colonne : ultrasphère C 18, 4,6 mm x 75 mm, 3 µm
- débit : 1,2 ml/min
- éluant : A acétate de sodium 0,01 M pH 6 + 1% THF
B méthanol
- gradient : 0 min 12,5% B, 8 min 45% B, 16 min 67% B,
28 min 100% B, 31 min 12,5% B

2.5. Dosage des sucres

2.5.1. Chromatographie en phase liquide

Les sucres sont dosés en CLHP par la méthode d'étalonnage externe (MEUNIER et al. 1986).

Matériels : pompe SHIMADZU LC-5A ; réfractomètre VARIAN séries RI-3 ; intégrateur 3393 A HEWLETT-PACKARD.

Conditions chromatographiques :

- colonne : Lichrosorb NH2 30 cm x 0,4 cm 5 µm, thermo-régulée à 30°C
- débit : 1 ml/min
- éluant : acétonitrile-eau (80/20)
- détection : réfractométrie
- volume injecté : 10 µl

2.5.2. Voie enzymatique

Pour des concentrations inférieures à 5 g/l, le fructose et le glucose sont dosés en spectrophotométrie UV à 340 nm avec un kit enzymatique (BOEHRINGER réf. 139106).

Principe :

Le glucose et le fructose sont phosphorylés par l'adénosine-5'-triphosphate (ATP) en glucose-6-phosphate (G-6-P) et fructose-6-phosphate (F-6-P) dans une réaction catalysée par l'hexokinase.

En présence de glucose-6-phosphate-déshydrogénase (G6P-DH), le glucose-6-phosphate est oxydé par le nicotinamide-adénine dinucléotide phosphate (NADP) en gluconate-6-phosphate. Il se forme du nicotinamide-adénine-dinucléotide phosphate réduit (NADPH).

La quantité de NADPH formée en cours de la réaction est proportionnelle à la quantité de glucose.

On la détermine par son absorption à 340 nm.

A la fin de la réaction, le F-6-P est transformé en G-6-P par la phosphoglucose-isomérase.

Le G-6-P formé réagit à son tour avec le NADP en formant du gluconate-phosphate et du NADPH. La quantité de NADPH formée est mesurée à nouveau, elle est proportionnelle à la quantité de fructose.

Matériel : spectrophotomètre BECKMAN modèle 25.

2.6. Dosage des procyanidols

Le (-) épicatechol est dosé en CLPH par la méthode d'étalonnage externe (MERMET 1985).

Matériels : chromatographe VARIAN 5000, équipé d'un détecteur U.V. à barrette de diode HP 1040 A avec son système d'acquisition de données Hewlett-Packard.

Conditions chromatographiques :

- colonne : Lichrospher RP 18 100 CH-18/2, 25 cm x 0,4 cm, 5 µm
- débit : 1 ml/min
- éluant : A acide phosphorique 2 mM
B méthanol
- gradient : 0 min 5% B, 27 min 59% B, 35 min 100% B
- détection : U.V. 280 nm
- volume injecté : 10 µl

3 - Extraction des protéines du cacao

3.1. Délipidation

5 g de poudre de cacao sont mis en contact avec 100 ml d'hexane sous agitation, à température ambiante, pendant 30 minutes. Après centrifugation, le surnageant est éliminé et l'opération est renouvelée sur le culot.

3.2. Elimination des composés phénoliques (BAREL 1982)

100 ml de solution acétone-eau (80/20), contenant 1,76 g d'acide ascorbique (pour éviter l'oxydation des polyphénols, ces oxydations pouvant conduire au tannage des protéines) sont préparés. Le culot précédent, mélangé à 20 ml de solution acétonique est passé 5 minutes aux ultrasons, le surnageant est éliminé. Cette opération est renouvelée 5 fois jusqu'à décoloration du surnageant.

3.3. Extraction des protéines (TIMBIE et KEENEY 1977)

La fraction protéique est extraite directement sur le culot de centrifugation issu des traitements précédents.

La solution d'extraction est constitué de :

21,02 g d'urée (3,5 M) ; 0,35 g d'acide citrique monohydraté (0,016 M) ;
0,36 g de bromure de N cétyl-N,N,N-triméthylammonium (0,01 M) ; 2 g d'EDTA
1,76 g d'acide ascorbique ; dissous dans 100 ml.

Le culot est repris par 20 ml de cette solution, le mélange placé 5 minutes aux ultrasons, puis centrifugé, l'opération est renouvelée 5 fois. Les surnageants sont réunis.

3.4. Dessalage de l'extrait protéique

Les sels sont éliminés par une dialyse (membrane retenant les poids moléculaires supérieurs à 6-8000) de 24 heures contre du tampon TRIS/HCl pH 7,7 (50 mM). L'extrait est concentré à l'évaporateur rotatif à 10 ml environ.

4 - Détermination de l'activité protéolytique résiduelle du cacao

Elle est effectuée à l'aide du kit BOEHRINGER pour la détection et la détermination de l'activité endoprotéolytique (réf. 582 433).

Principe :

Le fibrinogène (facteur de coagulation I) est activé par la thrombine (facteur de coagulation IIa) en monomères de la fibrine, lesquels dans les conditions appropriées polymérisent en fibrine.

La fibrine est insoluble dans l'eau, elle est solubilisée par une dégradation endoprotéolytique.

Des dépôts de 15 µl d'extrait protéique de cacao sont réalisés sur une couche de fibrine dans une boîte de Pétri. Après une incubation de 12 heures dans une étuve à 37°C, on examine la taille des aires de lyse, celle-ci est proportionnelle à l'activité protéolytique de l'échantillon.

5 - Techniques utilisées pour augmenter la teneur en précurseurs du cacao

5.1. Infiltration sous vide

Les produits en solution sont infiltrés dans les nibs de cacao au moyen d'un évaporateur rotatif de type Büchi.

Pour cela, les nibs sont placés dans un ballon de 500 ml et dégazés sous vide environ 5 minutes. La solution de supplémentation est injectée sous vide dans le ballon de manière à bien recouvrir le cacao (environ 100 g de cacao / 200 ml de solution). Le vide est cassé, ce qui accélère la diffusion des produits dans les nibs. Les nibs sont laissés à tremper entre 2 et 20 minutes sous agitation, puis égouttés et séchés dans une étuve à 30°C (ou à température ambiante).

5.2. Protéolyse du cacao pour augmenter la teneur en acides aminés libres

5.2.1. Utilisation de l'activité protéolytique résiduelle du cacao

Les nibs sont infiltrés avec une solution de fructose-glucose (60-15 g/l) selon le protocole du paragraphe 5.1. Pour chaque échantillon infiltré, une moitié est séchée et gardée comme témoin, l'autre partie est mise à incuber (température 30-32°C, humidité relative 98%).

La réhydratation des nibs au moyen d'une solution de fructose-glucose a pour objectif de réaliser en une seule étape l'augmentation de la teneur des nibs, en acides aminés par

utilisation de l'activité résiduelle protéolytique et en sucres réducteurs par supplémentation directe.

La teneur en eau des nibs varie entre 15 et 25% en fonction de la durée du trempage.

5.2.2. Utilisation de protéases exogènes

a. Enzymes utilisées

Les enzymes utilisées proviennent de la société BOEHRINGER.

Tableau 8 : Caractéristiques des enzymes utilisées pour l'hydrolyse des protéines de cacao.

Enzyme	origine	Poids	PH optimum	activité spécifique
Pronase	Streptomyces griseus	-	7 - 8	7 U/mg Caséine (40°C)
Papaïne	Caraca papaya E.C. 3.4.22.2	21 000	6 - 7	30 U/mg BAEE (25°C)
Ficine	Ficus carica E.C. 3.4.22.3	24 000	6,4	3 U/mg BAEE (25°C)
Bromélaïne	Ananas comosus (tige) E.C. 3.4.22.4	33 000	8 - 8,5	6 U/mg hémoglobine (37°C)

BAEE : Benzoyl-L-arginine ethyl ester

b. Protéolyse d'un extrait protéique de cacao

Le protocole du paragraphe 3 est utilisé avec les variantes suivantes :

- 10 g de poudre de cacao
- 2 x 200 ml d'hexane pour la délipidation
- 300 ml de solution d'extraction.

Après dessalage, on obtient un extrait protéique de 300 ml.

A 13 ml d'extrait protéique (environ 40 mg de protéines) sont ajoutés 1,5 mg d'enzyme (soit 4% de la teneur en substrat), puis complétés à 50 ml avec une solution de tampon phosphate au pH d'activité maximale pour chaque enzyme.

Pour chaque essai un témoin est réalisé avec 1,5 mg d'enzyme dans 50 ml de solution phosphate correspondante.

Deux séries sont effectuées avec deux temps d'incubation (à 30-32°C) différents : 2 et 6 heures.

Après incubation, les extraits sont ramenés à pH 2,5. Les acides aminés libres des extraits sont dosés par CLHP.

c. Protéolyse in situ des protéines du cacao

100 mg de pronase et 50 mg de bromélaïne sont mis en solution dans 200 ml de tampon phosphate au pH d'activité optimale correspondant, contenant 10 mM de cystéine et 1 mM d'EDTA (agents activants).

Les nibs sont infiltrés avec les solutions d'enzyme suivant la méthode d'infiltration mise au point (paragraphe 5-1), avec un temps de trempage de 10 minutes. Ils sont égouttés et mis à incuber (2 heures à 30°C, humidité relative 98%), puis à sécher. Les nibs témoins sont infiltrés avec la solution tampon correspondante sans enzyme, puis égouttés et séchés. La quantité de cacao traité correspond à environ 100 g, soit à peu près 10 g de protéines.

6 - Techniques d'extraction et d'analyse des composés volatils

6.1. Extraction des pyrazines par entraînement à la vapeur

25 g de poudre de cacao sont placés dans l'extracteur. 100 ml de distillat sont recueillis dans 50 ml d'éther éthylique (durée environ 1 heure). La phase aqueuse additionnée de 10 g de chlorure de sodium est amenée à pH 9 avec une solution de soude. Ensuite elle est extraite 3 fois par 50 ml d'éther diéthylique. Les phases étherées sont réunies, séchées par du sulfate de magnésium anhydre, puis filtrées.

La phase étherée est concentrée sous azote jusqu'à environ 0,5 ml. L'étalon interne (méthyl-4 pyridine) est ajouté, quand le volume est d'environ 2 ml.

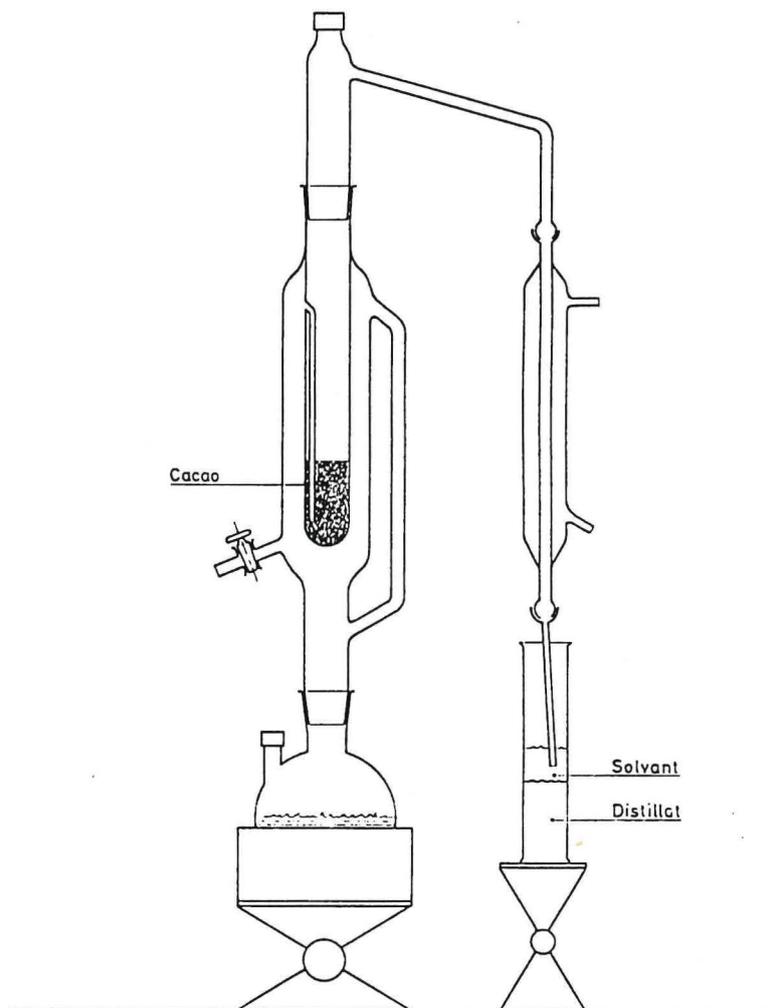


figure 4 : dispositif d'entraînement à la vapeur utilisé pour extraire les composés volatils du cacao.

6.2. Extraction des aldéhydes par entraînement à la vapeur

La technique d'extraction est identique à celle du paragraphe 6.1.

Le pH n'est pas ajusté à 9 et 50 mg de potasse sont ajoutés en fin de concentration pour neutraliser l'acide acétique, extrait lors de l'entraînement à la vapeur.

L'étalon interne utilisé est le méthyl-2 pyrrole.

6.3. Dosage des pyrazines et des aldéhydes

Ces composés volatils sont dosés en chromatographie en phase gazeuse par la méthode d'étalonnage interne (figures 5,6 et 7).

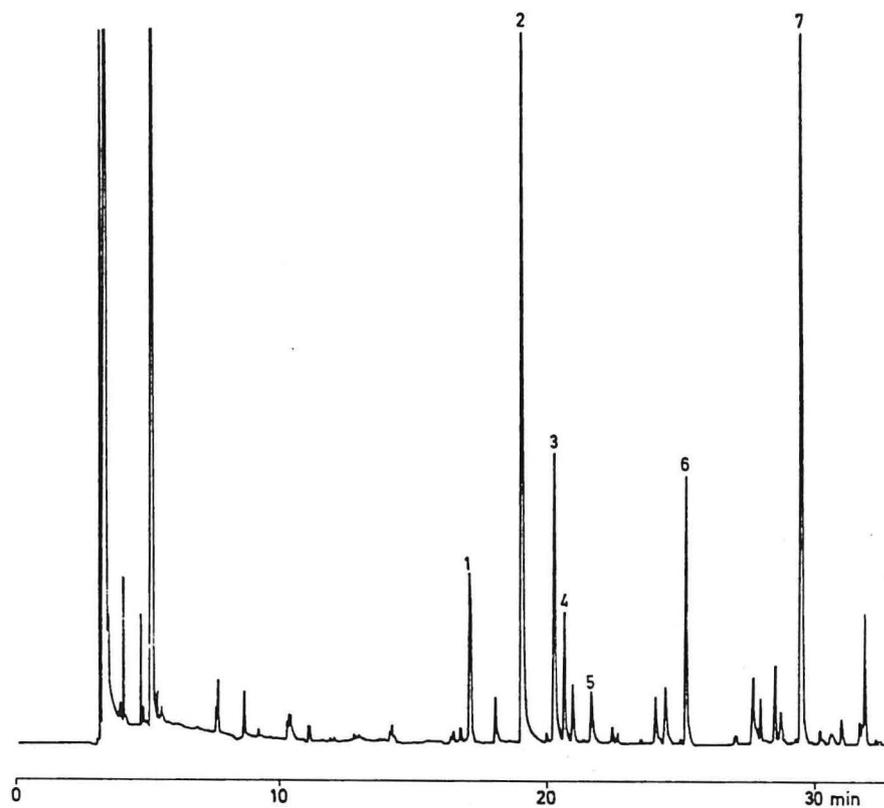
Pour chaque composé les résultats sont exprimés par le rapport de l'aire du pic correspondant, à l'aire du pic d'étalon interne. La détermination quantitative des composés est effectuée après détermination de leur coefficient de réponse Kf à partir des solutions témoins.

Matériels :

Chromatographe VARIAN 3300 muni d'un détecteur à ionisation de flamme et équipé d'un dispositif de régulation sub-ambient de la température du four (CO2 liquide) ; intégrateur SHIMADZU CR 3-A.

Conditions chromatographiques :

	Aldéhydes	Pyrazines
Colonne	J.W DB 5 30 m x 0,30 mm	J.W DB WAX 60 m x 0,25 mm
Programmation de température sur la colonne	T initiale : 0°C 2°C / min 100 °C isotherme 5 min 4°C/min T finale : 220 °C	T initiale : 50°C 2°C / min T finale : 150 °C
Température injecteur	280°C	280°C
Température détecteur	250°C	250°C
débit colonne (gaz vecteur : hélium)	2,6 ml/min	2,4 ml/min
rapport de split	57	50
quantité injectée	1 µl	1 µl



- 1 Méthyl-2 pyrazine
- 2 Méthyl-4 pyrazine
- 3 Diméthyl-2,5 pyrazine
- 4 Diméthyl-2,6 pyrazine
- 5 Diméthyl-2,3 pyrazine
- 6 Triméthyl-2,3,5 pyrazine
- 7 Tétraméthyl-2,3,5,6 pyrazine

figure 5: Chromatogramme de méthyl pyrazines d'un extrait de cacao torréfié.

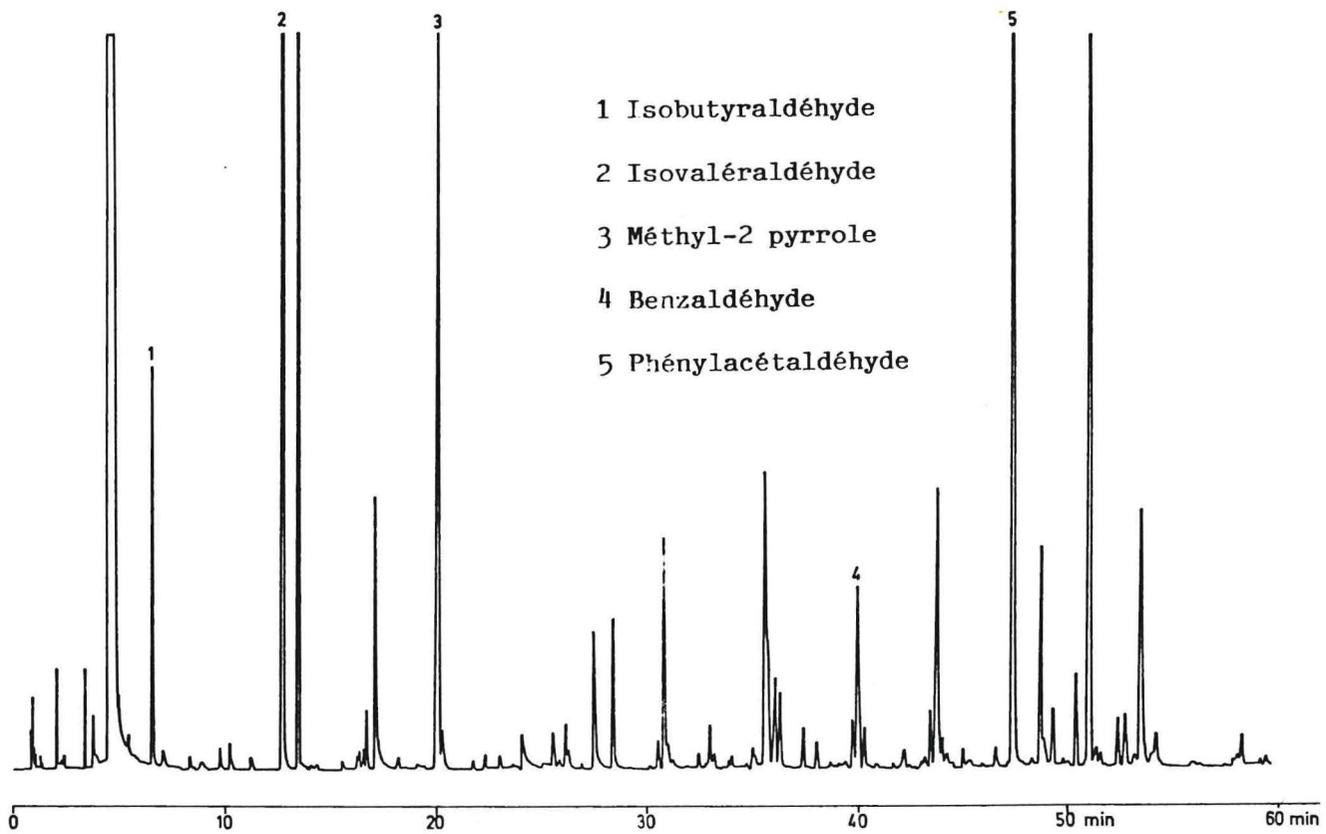
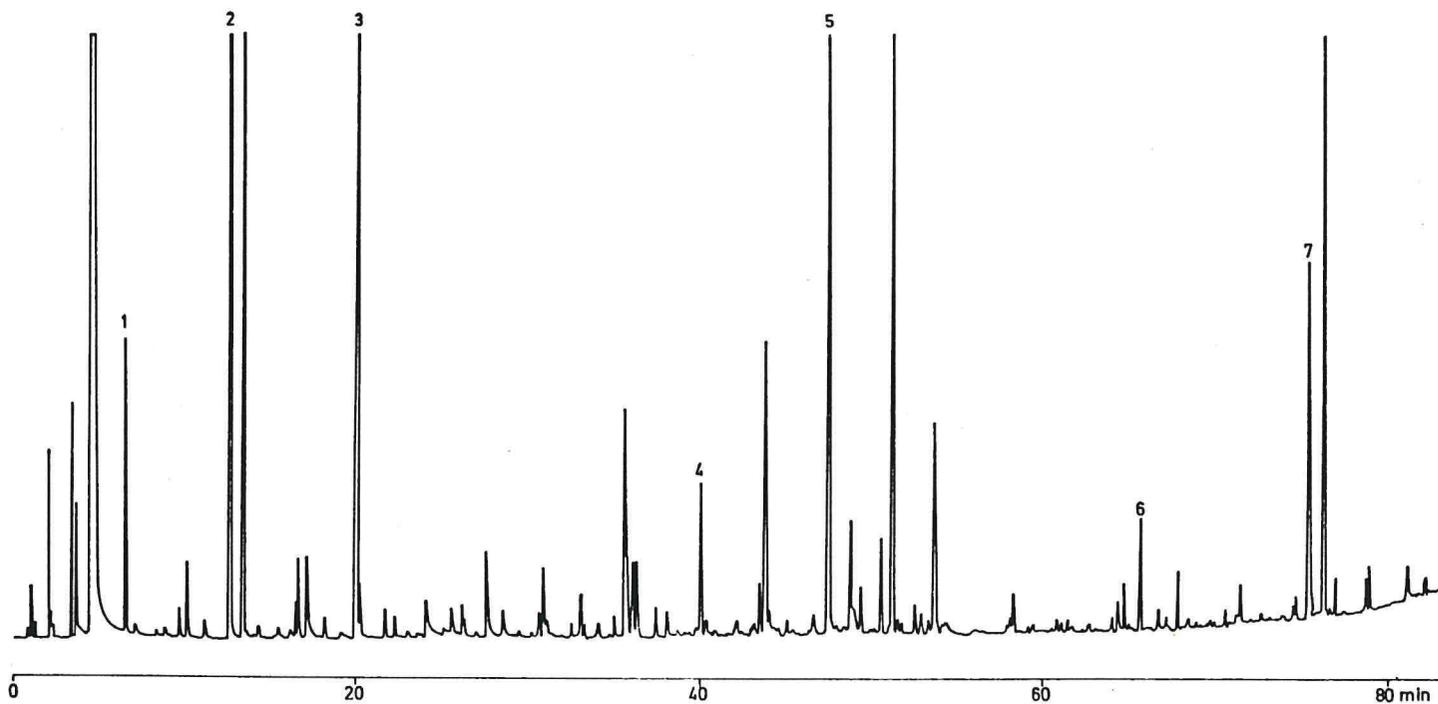


figure 6 : Chromatogramme d'aldéhydes de Stecker d'un extrait de cacao torréfié.



1 Isobutyraldéhyde

6 Phényl-2 butènal-2

2 Isovaléraldéhyde

7 Méthyl-5 phényl-2 hexènal-2

3 Méthyl-2 pyrrole

4 Benzaldéhyde

5 Phénylacétaldéhyde

Figure 7 : Chromatogramme d'aldéhydes de Stecker et de leurs produits d'aldococondensation d'un extrait de cacao torréfié.

7 - Fiabilité des méthodes d'analyses et d'extraction des composés volatils

7.1. Les pyrazines

7.1.1. Taux de recouvrement d'une solution témoin

Deux mélanges témoins identiques de pyrazines sont extraits selon le protocole d'extraction du paragraphe 6.1.

Les triméthyl et tétraméthyl pyrazines présentent les taux de recouvrement les plus élevés. Le taux le plus bas est observé pour la méthyl pyrazine (tableau 9).

HUMBERT et SANDRA (1987), pour un même mélange, obtiennent un taux de recouvrement de 95% pour toutes les pyrazines, en 75 minutes, avec un appareil de Likens et Nickerson.

Tableau 9 : Taux de recouvrement (%) des pyrazines en solutions témoins (concentration 50 mg/100 ml par pyrazine).

	Solution 1	Solution 2	Moyenne
Méthyl-2 pyrazine	39,5	52,8	46,2
Diméthyl-2,5 pyrazine	50,2	67,1	58,6
Diméthyl-2,6 pyrazine	54,6	76,4	65,0
Diméthyl-2,3 pyrazine	53,9	68,9	61,4
Triméthyl-2,3,5 pyrazine	66,7	78,0	72,4
Tétraméthyl-2,3,5,6 pyrazine	75,1	75,2	75,2

7.1.2. Répétabilité de la méthode d'analyse

Six échantillons de cacao sont respectivement torréfiés 25 minutes à 140°C, puis traités selon le protocole du paragraphe 6.1. Les coefficients de variation (CV) (tableau 10) sont compris entre 7,3 et 13,1%.

Tableau 10 : Répétabilité de la méthode torréfaction-extraction-dosage des pyrazines du cacao : teneur en mg/kg.

Essai	1	2	3	4	5	6	moy	CV%
Méthyl-2 pyrazine	2,0	2,4	2,4	2,7	1,8	2,2	2,3	13,1
Diméthyl-2,5 pyrazine	4,2	4,8	5,1	4,9	3,4	4,1	4,5	9,8
Diméthyl-2,6 pyrazine	1,2	1,4	1,6	1,5	1,1	1,40	1,4	11,1
Diméthyl-2,3 pyrazine	1,3	1,4	1,4	1,6	1,2	1,4	1,4	7,3
Triméthyl-2,3,5 pyrazine	5,6	5,9	6,6	6,6	5,4	5,3	5,9	8,6
Tétraméthyl-2,3,5,6 pyrazine	19,8	14,5	14,5	17,6	15,0	14,4	15,1	8,5

7.2. Les aldéhydes

7.2.1. Taux de recouvrement d'une solution témoin

Quatre solutions témoins d'aldéhydes sont extraites selon le protocole 6.2. Le tableau montre une grande différence des taux de recouvrement entre l'isobutyraldéhyde (point ébullition bas) et les aldéhydes moins volatils (tableau 11).

Tableau 11: Taux de recouvrement (%) des aldéhydes en solutions témoins (concentration 50 mg/ 100 ml par aldéhyde).

solutions :	1	2	3	4	moy	CV%
Isobutyraldéhyde	6,2	11,1	8,9	5,0	7,8	30,5
Isovaléraldéhyde	31,2	44,1	30,8	31,0	34,3	16,6
Benzaldéhyde	-	-	-	91,0	-	-
Phénylacétaldéhyde	71,6	77,0	89,3	58,0	74,0	15,1
Phényl-2 butène-2 al	84,6	76,4	70,6	-	77,2	7,4
Méthyl -5 phényl-2 hénène-2 al	70,6	62,4	57,5	-	63,5	8,5

Lors de l'entraînement à la vapeur, le phénylacétaldéhyde et l'isovaléraldéhyde peuvent se condenser pour donner du méthyl-5 phényl-2 hexène-2 al. Nous avons réalisé une solution des deux premiers aldéhydes que nous avons traitée selon notre protocole d'extraction. Au dosage la présence de produit d'aldocondensation n'apparaît pas.

7.2.2. Répétabilité de la méthode d'analyse

5 échantillons sont torréfiés 25 minutes à 140°C. Ces échantillons sont respectivement traités selon le protocole du paragraphe 6.2. Les coefficients de variation obtenus varient entre 12.6 et 13.8% (tableau 12). Comme pour les pyrazines ces valeurs élevées s'expliquent par le fait que le coefficient de variation prend en compte la torréfaction, l'extraction, le dosage.

Les erreurs relatives sur chaque étape s'additionnent (l'erreur commise pour le dosage en CPG est de l'ordre de 2 à 3%).

Tableau 12 : Répétabilité de la méthode de torréfaction - extraction - dosage.
des aldéhydes du cacao (Teneur en mg/kg).

Essai	1	2	3	4	5	moy	CV%
Isobutyraldéhyde	1,3	1,9	1,6	1,9	1,4	1,6	13,3
Isovaléraldéhyde	32,4	40,7	36,7	41,9	29,1	36,2	13,4
Phénylacétaldéhyde	11,0	10,0	12,1	10,9	7,9	10,4	13,8
Phényl-2 butène-2 al	0,8	0,8	0,8	1,0	0,6	0,8	13,8
Méthyl-5 phényl-2 hexène-2 al	1,6	1,2	1,3	1,7	1,5	1,4	12,6

8 - Analyse des composés volatils formés au cours de la torréfaction de mélanges synthétiques de précurseurs

Les produits sont mis en solution dans une nacelle, l'eau est évaporée. Les précurseurs contenus dans la nacelle sont torréfiés (150°C, 10 minutes) dans le four d'une platine D.C.I. (désorption-condensation-introduction).

Le four est balayé en continu par un courant d'azote (35 ml/min), et les produits formés pendant la torréfaction sont entraînés et adsorbés sur Tenax GC, refroidi à 0°C par de l'azote liquide. Le chauffage à 220°C du Tenax conduit à la désorption des composés volatils qui sont directement injectés en tête de colonne.

Un système d'évent permet de sentir l'odeur des précurseurs torréfiés.

Matériels :

Chromatographe INTERSMAT IGC 16, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme ; platine DCI DELSI ; enregistreur SEFRAM.

Conditions chromatographiques :

- colonne : CARBOWAX 20M, 50 m x 0,30 mm
- débit : 2 ml/min (gaz vecteur hélium)
- température initiale : 60°C
- température finale : 200°C
- programmation température : 2°C/min
- rapport de split : 50
- température injecteur : 220°C
- température détecteur : 220°C

9 - Dispositif de récupération des composés volatils

La torréfaction est réalisée dans un four électrique à 150°C sur des fèves ou des nibs de cacao. Les produits volatils émis sont condensés successivement, à température ambiante sur du coton cardé, dans un récepteur refroidi par un bain de glace, et dans un récepteur refroidi par de l'azote liquide. La circulation des composés volatils, dans le système, est assurée par une légère dépression au moyen d'une trompe à vide.

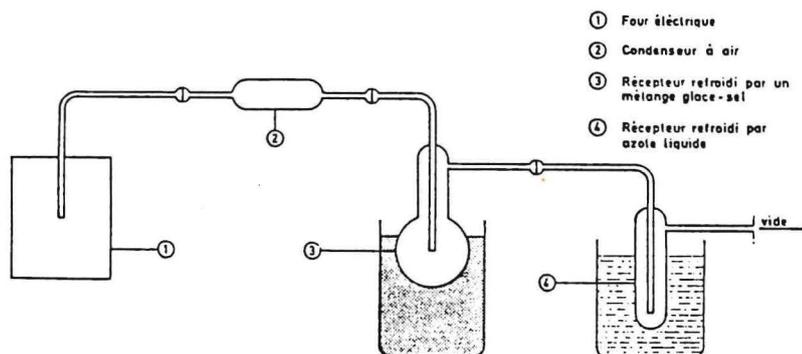


figure 8 : Schéma du dispositif de récupération des composés volatils émis lors de la torréfaction du cacao.

10 - Identification des composés volatils de l'arôme cacao

Les composés sont identifiés par couplage chromatographie en phase gazeuse - spectrométrie de masse (CPG/SM) au laboratoire de recherche arôme de SANOFI-BIO-INDUSTRIES à Grasse.

Chromatographe : 5840 HP, colonne HP1 50 m x 0,2 mm, splitless, 50°C 4 min puis 280°C /2°C/ min.

Spectromètre de masse : 5985 HP, impact électronique.

11 - Evaluation organoleptique de l'arôme

L'évaluation de l'arôme d'un échantillon se fait en réalisant un chocolat ou une infusion avec le cacao torréfié.

La préparation de l'infusion présente l'avantage d'être plus rapide.

L'évaluation organoleptique du chocolat ou de l'infusion est effectuée par un jury de 10 dégustateurs :

- en test triangulaire
- en test hédonique.

11.1. Infusion de cacao torréfié

15 g de poudre de cacao torréfié sont mis à infuser 5 minutes avec 400 ml d'eau bouillante (eau minérale Volvic ou équivalent). L'infusion est filtrée et sucrée (adjonction de 8 g de sucre glace).

11.2. Préparation du chocolat

100 g de nibs torréfiés sont broyés avec 100 g de sucre glace. La pâte de chocolat est raffinée jusqu'à obtention de la granulométrie voulue, puis conchée avec 30 g de beurre, environ 2 heures. La pâte de chocolat est transvasée dans les moules pour fabriquer des tablettes, puis mise à refroidir.

CHAPITRE III

CONTRIBUTION DE QUELQUES PRECURSEURS A LA FORMATION DE L'AROME CACAO

III - CONTRIBUTION DE QUELQUES PRECURSEURS A LA FORMATION DE L'AROME CACAO

Parmi l'abondante littérature concernant les précurseurs d'arôme, peu de travaux portent sur la relation entre la composition en précurseurs et l'arôme cacao. Il est nécessaire de préciser le rôle des précurseurs dans la formation de l'arôme cacao.

Il y a deux possibilités indirectes de déterminer la contribution des précurseurs : l'étude en système modèle ou l'évolution in situ, au cours de la torréfaction.

L'étude en système modèle comporte deux aspects : la comparaison d'un cacao fermenté avec un non fermenté, car un cacao non fermenté n'a pas d'arôme, ou la comparaison de mélanges artificiels de précurseurs.

L'évolution in situ pendant la torréfaction fait l'objet du chapitre suivant.

1 - Différence de potentiel aromatique liée à la composition en précurseurs entre un cacao fermenté et non fermenté

Un cacao non fermenté ne conduit pas à la torréfaction au développement de l'arôme typique. Nous avons donc comparé les compositions en sucres et en acides aminés d'un même cacao Amelonado de Côte d'Ivoire, fermenté et non fermenté.

Ces deux cacaos sont torréfiés, et les produits composant leur arôme identifiés en CG-SM.

1.1. Composition en précurseurs

Les sucres et les acides aminés sont dosés par CLHP (tableaux 13 et 14).

Tableau 13 : Teneur en sucres (g/100 g) pour un même cacao fermenté et non fermenté.

	Glucose	fructose	saccharose
fermenté	0,185	0,490	-
non fermenté	tr	-	1,800

Tableau 14 : Teneur (%) en acides aminés libres et totaux (g/100 g) sur un ême cacao fermenté et non fermenté.

	TOTAUX		LIBRES	
	non fermenté	fermenté	non fermenté	fermenté
Acide aspartique	1,360	1,080	0,015	0,025
Thréonine	0,550	0,470	0,002	0,035
Sérine + asparagine	0,660	0,540	0,015	0,042
Acide glutamique	1,920	1,640	0,040	0,040
Glycine	0,530	0,430	0,001	0,008
Alanine	0,530	0,430	0,011	0,055
<u>Valine</u>	0,600	0,480	0,005	0,035
Méthionine	0,120	0,100	0,003	0,012
Isoleucine	0,390	0,370	0,004	0,020
<u>Leucine</u>	0,760	0,640	0,009	0,078
Tyrosine	0,440	0,390	0,013	0,052
<u>Phénylalanine</u>	0,650	0,520	0,012	0,074
Acide amino butyrique	0,090	0,090	0,054	0,144
Histidine	0,220	0,190	0,007	0,011
Lysine	0,710	0,600	0,003	0,047
Arginine	0,920	0,800	0,006	0,054
Total	10,450	8,770	0,200	0,732

La composition en sucres et en acides aminés entre un cacao fermenté et non fermenté présente des différences qualitatives et quantitatives :

- le cacao fermenté contient des sucres réducteurs (le glucose et le fructose), le non fermenté ne renferme que du saccharose (sucre non réducteur)
- le cacao fermenté a une teneur totale en acides aminés sous forme libre beaucoup plus importante (plus de 3 fois 1/2), particulièrement pour la leucine, la valine et la phénylalanine (respectivement 9, 7 et 6 fois supérieures).

Dans le cacao fermenté, il y a également des composés phénoliques, mais leur nature est modifiée par la fermentation (polymérisation, oxydation) et peu sont solubles. Leur rôle est alors difficile à interpréter.

En conclusion, entre un cacao fermenté et non fermenté, il existe une différence de composition en sucres, en acides aminés et en composés phénoliques.

1.2. Identification des composants de l'arôme

Les cacaos sont torréfiés à 140°C pendant 30 minutes. Les composés aromatiques sont extraits par entraînement à la vapeur (selon le protocole du paragraphe 6 chapitre II, sans conditions de pH particulières).

Après torréfaction, la poudre de cacao non fermenté n'a pas l'arôme chocolaté caractéristique de celui du cacao fermenté. Ce premier se caractérise en particulier par l'absence de phénylacétaldéhyde, de phényl-2 butène-2 al, de méthyl-5 phényl-2 hexène-2 al et de tétraméthyl pyrazine. Les autres aldéhydes et pyrazines, constituants de l'arôme cacao, sont identifiés à l'état de traces (tableau 15, figures 5 et 6).

Les conditions de torréfaction étant identiques pour les deux échantillons, la présence de tétraméthyl pyrazine ne semble pas liée aux conditions de torréfaction, mais bien à la composition de la fève de cacao, laquelle dépend des modifications chimiques intervenues lors de la fermentation.

Tableau 15 : Composés identifiés dans le cacao fermenté et non fermenté torréfiés.
Moyen d'identification SM-TR.

Composés identifiés	fermenté	non fermenté
1 acétate d'éthyle		+
2 isovaléraldéhyde	+	+
3 diacétyl	+	
4 acétate de pentanol-2	+	+
5 pentanol-2	+	+
6 acétate d'isoamyle	+	+
7 butanol		+
8 xylène		tr
9 alcool isoamylique	+	+
10 méthyl pyrazine	+	+
11 hydroxy-3 butanone	+	tr
12 diméthyl-2,5 pyrazine	+	tr
13 diméthyl-2,6 pyrazine	+	tr
14 diméthyl-2,3 pyrazine	+	tr
15 éthyl méthyl pyrazine (x2)	+	tr
16 triméthyl pyrazine	+	tr
17 acide acétique	+	+
18 éthyl diméthyl pyrazine (x2)	+	
19 tétra méthyl pyrazine	+	
20 acétyl-2 furanne	+	
21 diéthyl méthyl pyrazine	+	tr
22 benzaldéhyde	+	tr
23 acide isobutyrique	+	
24 gamma butyrolactone	+	+

suite tableau 15 :

Composés identifiés	fermenté	non fermenté
25 phénylacétaldéhyde	+	
26 hexadécane		+
27 alcool fufurylique	+	+
28 acide butyrique ou (ac méthyl butyrique)	+	
29 heptadécane		+
30 octadécane		+
31 acétate de l'alcool phényl éthylique	+	
32 dodécanocatate d'éthyl	+	
33 benzoate de butyle	+	
34 alcool benzylique	+	
35 alcool phényl éthylique	+	+
36 phényl-2 butène-2 al	+	
37 acétyl-2 pyrrole	+	+
38 formyl-2 pyrrole	+	+
39 méthyl-5 phényl-2 hexène-2 al	+	
40 N méthyl formyl-2 pyrrole	+	

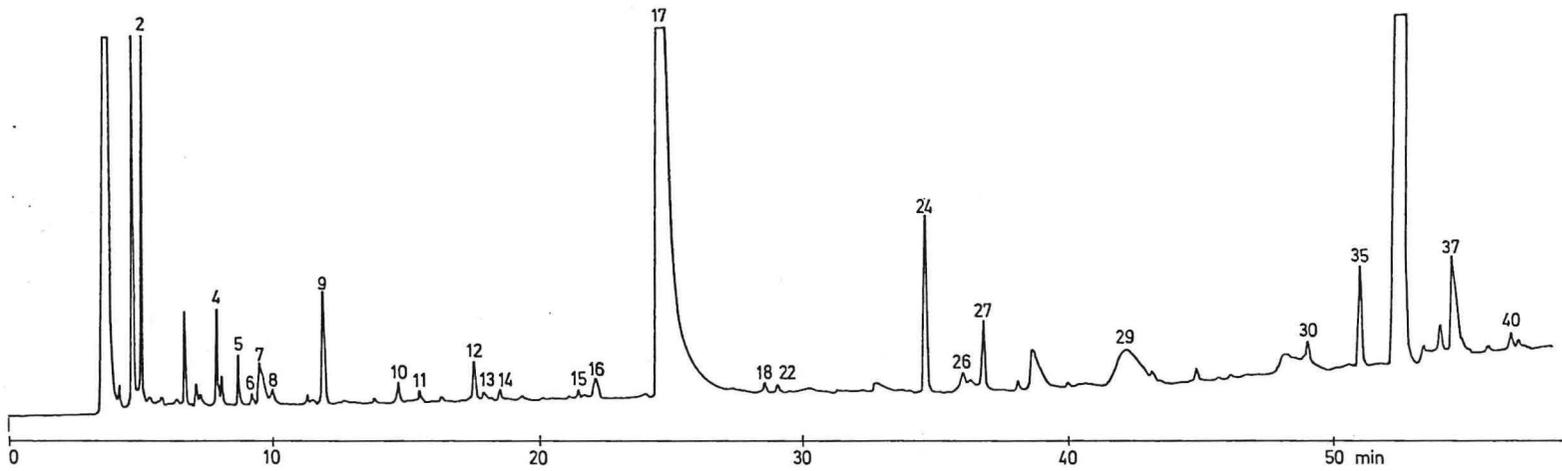


Figure 9 : Chromatogramme d'un extrait de cacao non fermenté torréfié.

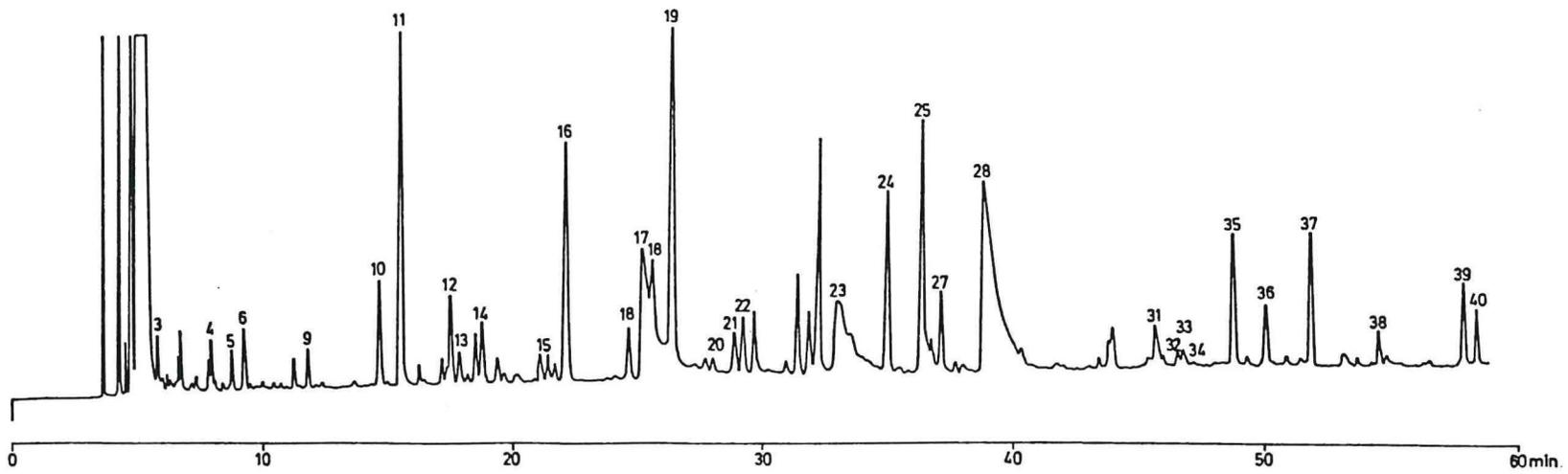


Figure 10: Chromatogramme d'un extrait de cacao fermenté torréfié.

2 - Contribution de quelques précurseurs à l'arôme cacao. Etude de mélanges synthétiques de précurseurs

Les résultats précédents nous ont conduit à torréfier des mélanges synthétiques de précurseurs, supposés ou connus de l'arôme cacao. Nous nous sommes limités aux deux sucres réducteurs principaux du cacao fermenté, à la valine, la leucine et la phénylalanine, précurseurs des aldéhydes connus. Nous avons également tenté de caractériser le rôle de quelques phénols constitutifs.

2.1. Essais préliminaires

Les aromagrammes des mélanges de précurseurs torréfiés présentent des différences qualitatives et quantitatives en fonction de la présence ou l'absence de composés phénoliques de cacao, en particulier l'épicatéchol ; en fonction de la nature des acides aminés et des sucres réducteurs (tableau 16).

Les chromatographes des essais 2, 6, 8 et 11 sans phénols présentent des différences qualitatives et quantitatives par rapport à ceux de leurs homologues avec phénols respectivement 3, 7, 9 et 12.

Dans le cas des essais 2,5,11, ces différences sont liées à la nature des acides aminés mis en jeu, pour les essais 2, 4 et 6 à la nature des sucres réducteurs.

Dans les mélanges synthétiques de précurseurs, l'emploi de fructose conduit à des aromagrammes plus riches (2/4, 2/6) (figures 11 et 13).

L'addition d'extraits bruts de composés phénoliques de cacao non fermenté ou d'épicatéchol, sur des mélanges sucres-acides aminés, a pour effet de diminuer l'intensité des pics et la richesse des chromatogrammes des mélanges torréfiés (2/3, 6/7, 8/9, 11/12) (figures 11 et 12).

Tableau 16 : Composition initiale des mélanges synthétiques de précurseurs torréfiés et odeur perçue.

Essai	composition du mélange	odeur constatée
1	fructose leucine 2,00 mg 2,00 mg	biscuit fromage
2	fructose leucine 2,00 mg 2,00 mg	biscuit fromage
3	fructose leucine épicatéchol 2,00 mg 2,00 mg 0,50 mg	biscuit fromage arôme plus faible
4	glucose leucine 2,00 mg 2,00 mg	non définie
5	fructose phénylalanine 2,00 mg 2,00 mg	non définie
6	fructose glucose leucine 1,00 mg 1,00 mg 2,00 mg	non définie
7	glucose fructose leucine épicatéchol 1,00 mg 1,00 mg 2,00 mg 0,50 mg	non définie
8	fructose leucine phénylalanine 2,00 mg 1,00 mg 1,00 mg	chocolatée légère
9	fructose leucine phénylalanine extraits phénols cacao 2,00 mg 1,00 mg 1,00 mg 1,00 mg	chocolatée légère
10	fructose glucose extrait phénol cacao alanine valine leucine isoleucine acide aspartique acide glutamique lysine proline phénylalanine 1,50 mg 0,50 mg 0,80 mg 0,20 mg 0,20 mg 0,20 mg 0,20 mg 0,35 mg 0,20 mg 0,20 mg 0,20 mg 0,25 mg	chocolatée
11	fructose leucine valine phénylalanine 2,00 mg 1,00 mg 1,00 mg 1,00 mg	chocolatée légère
12	fructose leucine valine phénylalanine extraits phénols cacao 2,00 mg 1,00 mg 1,00 mg 1,00 mg 1,00 mg	chocolatée légère

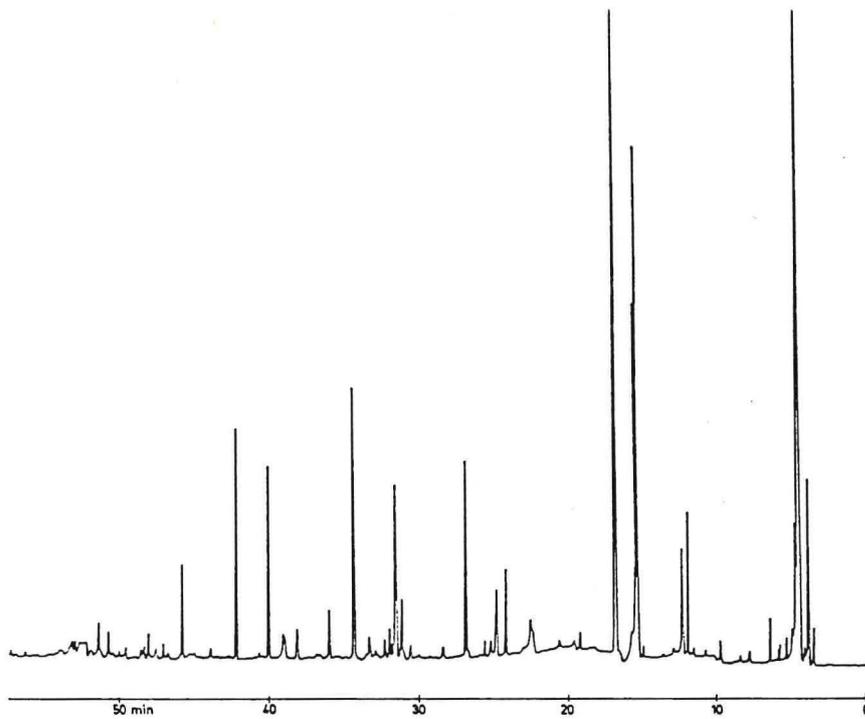


Figure 11: Chromatogramme de l'essai n°2

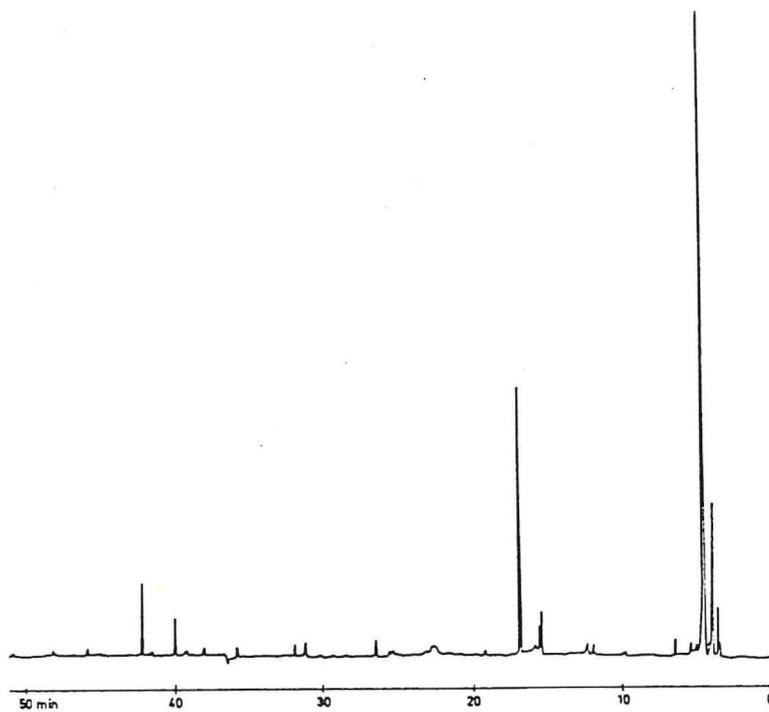


Figure 12: chromatogramme de l'essai n°3

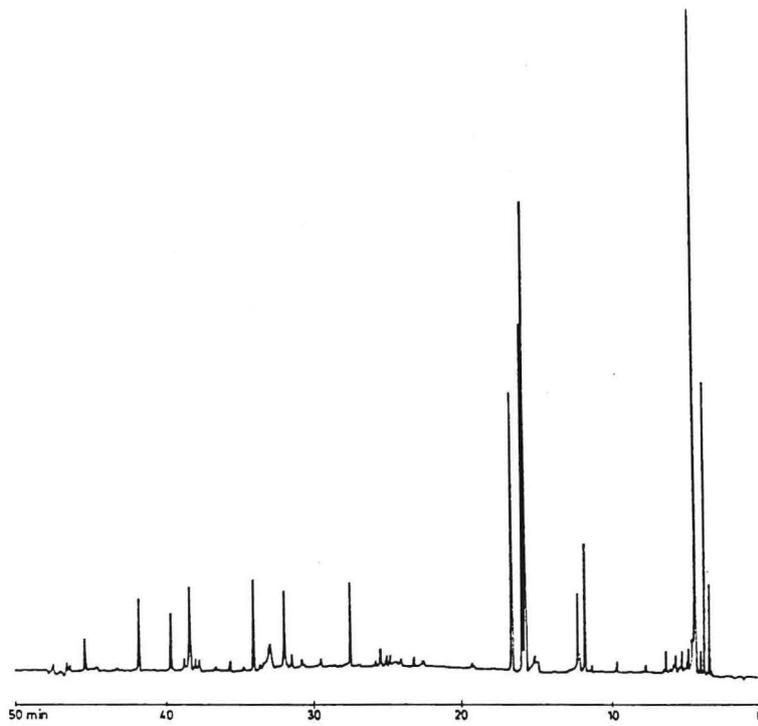


figure 13 : chromatogramme de l'essai n°6

2.2. Identification des produits de torréfaction de mélanges synthétiques de précurseurs

Deux mélanges (13 et 14) de précurseurs dans 40 ml d'eau sont mis dans une ampoule scellée. Les ampoules sont chauffées à 140°C pendant 35 minutes dans une étuve. Les composés formés pendant la torréfaction sont identifiés par couplage chromatographie phase gazeuse - spectrométrie de masse.

Le mélange 13 est composé de : 2 g de fructose, 2 g de glucose, 0,7 g de valine, 0,7 g de leucine, 0,7 g de phénylalanine. Le mélange 14 est identique au précédent et contient en plus 1 g de composés phénoliques de cacao non fermenté.

La comparaison des aromagrammes 13 et 14 montre que la présence de composés phénoliques conduit à la fois à une modification qualitative (moins de composés) et quantitative (plus faible concentration). Ceci confirme les résultats des essais précédents. Les travaux de LOPEZ et QUESNEL (1971) indiquent que l'addition d'épicatéchol au mélange réactionnel n'apporte pas une augmentation de la note chocolatée à l'arôme obtenu. Par contre ROHAN (1969) a montré que la présence de flavonoïdes dans des mixtures de précurseurs intensifiait la formation de l'arôme chocolat (il s'agit de composés phénoliques solubles de cacao fermenté).

Les différences entre les deux mélanges concernent en particulier la teneur en pyrazines et en aldéhydes (tableau 11 et figure 14). Par exemple le mélange 13 conduit à la formation de :

- pyrazine, méthyl pyrazine, diméthyl pyrazine (vraisemblablement la diméthyl-2,5 pyrazine) et triméthyl pyrazine ;
- isobutyraldéhyde, phénylacétaldéhyde, benzaldéhyde, phényl-2 méthyl-5 hexène-2 al et phényl-2 méthyl-4 pentène-2 al.

Dans le mélange 14, la pyrazine, la méthyl pyrazine et l'isobutyraldéhyde sont absents, les autres produits sont en quantité plus faible.

En revanche, dans les deux cas, la tétraméthyl pyrazine et l'isovaléraldéhyde n'ont pas été identifiés.

Les causes de l'absence de tétraméthyl pyrazine seront discutées ultérieurement, deux interprétations sont envisageables a priori :

- les conditions de torréfaction des mélanges ne conduiraient pas à cette synthèse
- la torréfaction, quelles que soient les conditions, ne conduirait en fait pas, ou peu, à la formation de tétraméthyl pyrazine.

Tableau 17 : Composés identifiés dans les mélanges synthétiques de précurseurs torréfiés (140°C 35 min). Identification SM-TR

produits identifiés	mélange 13	mélange 14
1 propanone-2	-	+
2 isobutyraldéhyde	+	-
3 acétal de diéthyle	-	+
4 oxyde de mésityle	-	+
5 pyridine	-	+
6 pyrazine	+	-
7 méthyl pyrazine	+	-
8 acétal	+	tr
9 diméthyl pyrazine	++	tr
10 hydroxy-4 méthyl-4 pentanone-2	-	++
11 triméthyl pyrazine	+	+
12 acide acétique	-	+
13 furfural	++	+
14 acétyl-2 furane	+	+
15 benzaldéhyde	++	++
16 acide isobutyrique	-	+
17 phényl acétaldéhyde	++	++
18 acide en C5	+	++
19 acide méthyl-4 valérique	+	-
20 alcool benzylique	+	+
21 phenyl-2 méthyl-4 pentène-2 al	++	+
22 acétyl pyrrole	+	+
23 phényl-2 méthyl-5 hexène-2 al	+	tr

- produit absent tr = traces
- + produit présent en faible quantité
- ++ produit présent en forte quantité

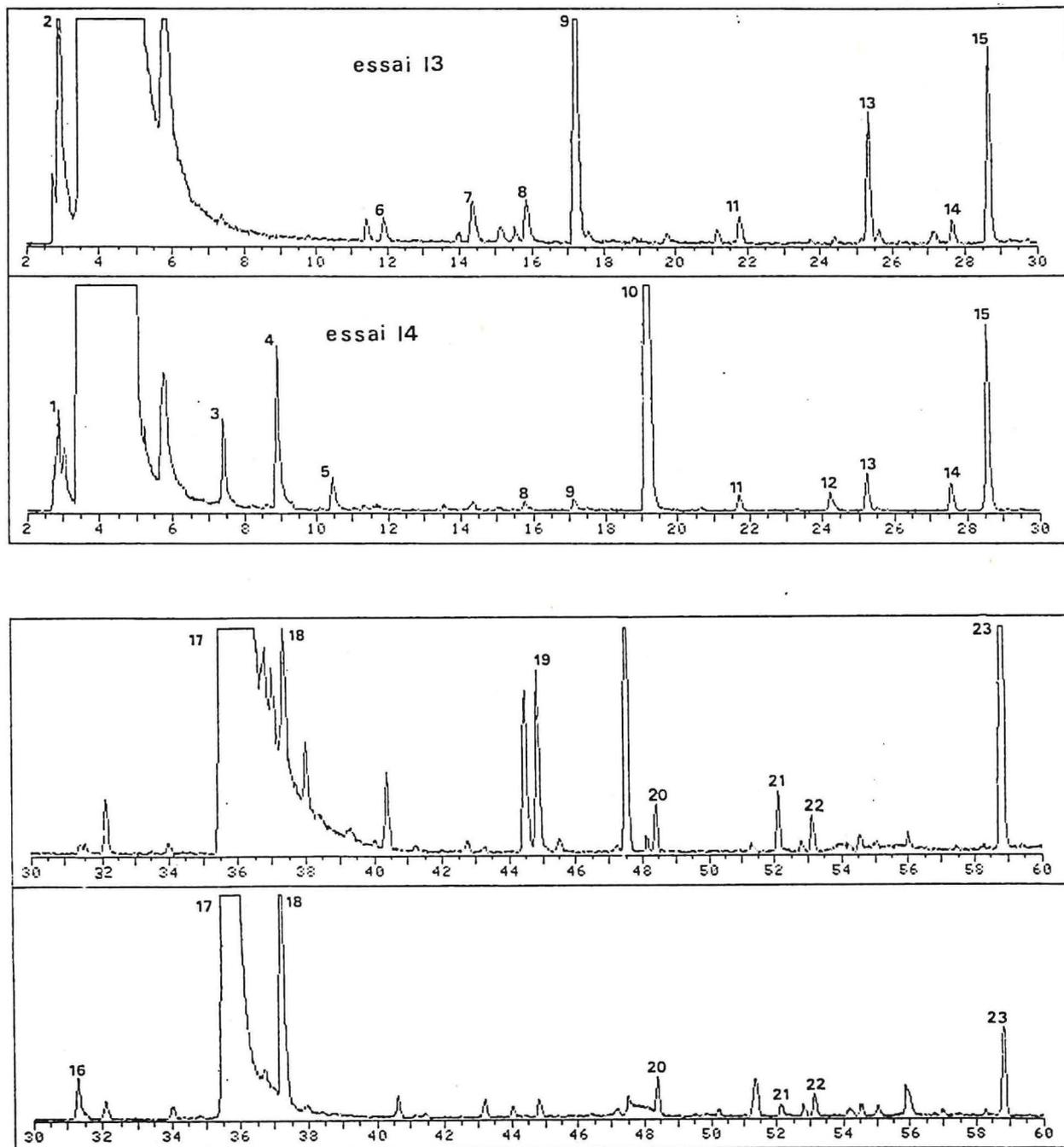


Figure 14 : chromatogramme des essais n° 13 et 14

4 - Conclusion

Les travaux sur les systèmes modèles montrent que le fructose joue un rôle plus important que le glucose, ainsi que la valine, la leucine et la phénylalanine par rapport aux autres acides aminés, dans le développement de l'arôme cacao. En effet, un mélange synthétique de ces précurseurs torréfié présente une odeur chocolatée, sans avoir toutefois la finesse et la complexité d'un arôme cacao.

Ces précurseurs en abondance relativement importante sont à l'origine des nombreuses voies de synthèse des constituants majeurs de l'arôme (aldéhydes et pyrazines). Cependant, il ne faut pas négliger le rôle des autres précurseurs (le glucose et les autres acides aminés), qui conduisent à des produits aromatiques dont la concentration dans le cacao torréfié est inférieure au mg/kg. Si les aldéhydes et les pyrazines constituent quantitativement les composés majeurs de l'arôme cacao, les autres produits en proportion infinitésimale apportent à l'arôme cacao toute sa richesse et sa complexité aromatique.

D'après la littérature, les composés phénoliques sont impliqués dans la formation de l'arôme, sans toutefois qu'on puisse en préciser la nature exacte. S'il y a participation au développement de l'arôme, elle demeure obscure.

La présence de composés phénoliques, extraits de cacao non fermenté, dans des systèmes modèles, nuit à la formation des composés aromatiques, du moins d'après les résultats chromatographiques. En effet, même si la perception d'une odeur est très subjective, les odeurs perçues présentent la même intensité en l'absence ou en présence des polyphénols, et sont difficiles à relier à l'analyse chromatographique.

La nature du rôle des composés phénoliques demande à être précisée : effet inhibiteur ou rétenteur.

Cependant il faut faire la distinction entre les phénols de cacao fermenté et non fermenté. La nature de ces composés est modifiée par la fermentation (polymérisation, oxydation), particulièrement leur solubilité. Les composés phénoliques de cacao non fermenté sont solubles, alors que dans le cacao fermenté une grande partie ne le sont pas. Ceci explique partiellement la différence fondamentale entre une torréfaction effectuée sur un cacao fermenté ou un système modèle.

CHAPITRE IV

INFLUENCE DE LA TORREFACTION SUR LE DEVELOPPEMENT DE L'AROME DE CACAO

IV - INFLUENCE DE LA TORREFACTION SUR LE DEVELOPPEMENT DE L'AROME DE CACAO

Dans ce chapitre, l'évolution des précurseurs d'arôme et de deux grandes familles de composés, les méthyl pyrazines et les aldéhydes, jouant un rôle prépondérant dans l'arôme cacao, a été étudiée en fonction des conditions de torréfaction.

Une étude préliminaire sur la consommation des précurseurs pendant la torréfaction a été effectuée, sans chercher de relations avec la formation des composés volatils. Nous avons essayé de déterminer des conditions "optimales" de torréfaction sur nibs, à savoir s'il existe une relation entre les qualités organoleptiques des chocolats confectionnés et la consommation des précurseurs du cacao.

Ces travaux préliminaires ont été complétés par une étude plus systématique et détaillée afin d'essayer d'établir une relation entre l'évolution des précurseurs et des composants de l'arôme durant la torréfaction.

1 - Etude préliminaire

1.1. Evolution des précurseurs d'arôme durant la torréfaction

Nous avons étudié la consommation des sucres réducteurs, des acides aminés, et de quelques phénols au cours de la torréfaction, d'un premier lot de cacao.

1.1.1. Acides aminés

a. Acides aminés sous forme libre

La teneur en acides aminés diminue régulièrement en fonction de la température (tableau 18).

Cette diminution présente quelques irrégularités en fonction de la durée de torréfaction, notamment à 10 et 15 minutes (tableau 19).

Parmi les acides aminés ayant un rôle prépondérant dans l'arôme cacao, la valine est la moins affectée par la torréfaction.

A 150°C après 25 minutes, la teneur résiduelle pour l'ensemble des acides aminés est de 59%. Elle est respectivement de 71,7%, 50% et 52,3% pour la valine, la leucine et la phénylalanine.

Pour des températures employées dans l'industrie (120-130°C, seulement 20 à 30% des acides aminés sont consommés, quoique les chocolatiers utilisent fréquemment des durées supérieures à 25 minutes, pour les basses températures de torréfaction.

Tableau 18 : Teneur en acides aminés libres (g/100 g) du cacao torréfié pendant 25 minutes en fonction de la température de chauffage. Témoin cacao non torréfié

	Témoin	110°C	120°C	130°C	140°C	150°C
Ac aspartique	0,026	0,024	0,023	0,022	0,022	0,025
Thréonine	0,022	0,021	0,021	0,016	0,015	0,012
Sérine	0,025	0,025	0,025	0,022	0,022	0,019
Asparagine	0,045	0,036	0,035	0,032	0,028	0,024
Ac.glutamique	0,053	0,040	0,033	0,027	0,020	0,012
Glutamine	0,007	0,004	0,003	0,001	0,001	0,001
Glycine	0,013	0,011	0,010	0,008	0,008	0,006
Alanine	0,070	0,066	0,064	0,059	0,058	0,058
<u>Valine</u>	<u>0,053</u>	<u>0,044</u>	<u>0,043</u>	<u>0,044</u>	<u>0,042</u>	<u>0,038</u>
Méthionine	0,006	0,005	0,004	0,003	0,003	0,003
Isoleucine	0,029	0,026	0,024	0,023	0,024	0,019
<u>Leucine</u>	<u>0,107</u>	<u>0,096</u>	<u>0,087</u>	<u>0,077</u>	<u>0,079</u>	<u>0,056</u>
Tyrosine	0,067	0,052	0,047	0,045	0,045	0,042
<u>Phénylalanine</u>	<u>0,108</u>	<u>0,094</u>	<u>0,089</u>	<u>0,075</u>	<u>0,069</u>	<u>0,054</u>
γaminobutyrique	0,037	0,027	0,027	0,020	0,029	0,018
Histidine	0,019	0,016	0,015	0,012	0,009	0,009
Lysine	0,057	0,049	0,045	0,033	0,040	0,029
Arginine	0,072	0,064	0,061	0,060	0,057	0,053
Total	0,810	0,700	0,656	0,579	0,571	0,478
Consommation(%)	0	13,6	19	28,5	29,5	41

Tableau 19 : Teneur en acides aminés libres (g/100 g) du cacao torréfié à 140°C en fonction du temps de chauffage. Témoin = cacao non torréfié

	Témoin	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min
Ac aspartique	0,026	0,021	0,020	0,024	0,022	0,021
Thréonine	0,022	0,016	0,013	0,017	0,015	0,013
Sérine	0,025	0,020	0,018	0,022	0,022	0,021
Asparagine	0,045	0,029	0,026	0,033	0,028	0,026
Ac.glutamique	0,053	0,026	0,023	0,024	0,020	0,016
Glutamine	0,007	0,002	0,001	0,002	0,001	0,001
Glycine	0,013	0,008	0,007	0,008	0,008	0,007
Alanine	0,070	0,057	0,053	0,066	0,058	0,054
<u>Valine</u>	<u>0,053</u>	<u>0,040</u>	<u>0,036</u>	<u>0,045</u>	<u>0,042</u>	<u>0,040</u>
Méthionine	0,006	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003
Isoleucine	0,029	0,025	0,022	0,026	0,024	0,021
<u>Leucine</u>	<u>0,107</u>	<u>0,081</u>	<u>0,076</u>	<u>0,082</u>	<u>0,079</u>	<u>0,071</u>
Tyrosine	0,067	0,048	0,043	0,049	0,045	0,038
<u>Phénylalanine</u>	<u>0,108</u>	<u>0,075</u>	<u>0,067</u>	<u>0,078</u>	<u>0,069</u>	<u>0,061</u>
γaminobutyrique	0,037	0,024	0,026	0,032	0,029	0,028
Histidine	0,019	0,010	0,009	0,010	0,009	0,009
Lysine	0,057	0,045	0,041	0,043	0,040	0,038
Arginine	0,072	0,061	0,052	0,057	0,057	0,052
Total	0,810	0,591	0,533	0,620	0,571	0,520
Consommation(%)	0	27	34,2	23,5	29,5	35,8

b. Acides aminés sous forme protéique

La dégradation des acides aminés sous forme protéique est relativement faible pendant la torrification : à 150°C, à peine plus de 5% sont détruits (tableaux 20 et 21).

Cette destruction représente 0,57% de la masse du cacao délipidé torrifié, alors qu'elle est seulement de 0,29% pour les acides aminés sous forme libre.

Outre la dégradation de la fraction protéique, cette diminution des acides aminés totaux peut être interprétée par la destruction des petits peptides, lesquels participeraient également au développement de l'arôme cacao (MOHR et al. 1971 et 1976).

Tableau 20 : Teneur en acides aminés totaux (g/100g) du cacao torrifié pendant 25 minutes en fonction de la température de chauffage.
Témoin = cacao non torrifié.

	Témoin	110°C	120°C	130°C	140°C	150°C
Ac aspartique	1,20	1,18	1,18	1,17	1,15	1,15
Thréonine	0,48	0,49	0,49	0,49	0,48	0,49
Sérine	0,67	0,64	0,64	0,63	0,63	0,62
Ac. glutamique	2,13	2,07	2,06	2,04	2,09	2,06
Glycine	0,53	0,48	0,47	0,48	0,49	0,45
Alanine	0,53	0,54	0,50	0,50	0,50	0,48
<u>Valine</u>	<u>0,63</u>	<u>0,65</u>	<u>0,65</u>	<u>0,63</u>	<u>0,63</u>	<u>0,61</u>
Méthionine	0,12	0,11	0,10	0,10	0,11	0,09
Isoleucine	0,43	0,43	0,43	0,42	0,41	0,41
<u>Leucine</u>	<u>0,76</u>	<u>0,77</u>	<u>0,76</u>	<u>0,77</u>	<u>0,72</u>	<u>0,72</u>
Tyrosine	0,48	0,46	0,47	0,47	0,48	0,50
<u>Phénylalanine</u>	0,66	0,64	0,63	0,62	0,60	0,57
Histidine	0,25	0,26	0,26	0,26	0,25	0,25
Lysine	0,64	0,61	0,59	0,58	0,59	0,56
Arginine	0,94	0,94	0,91	0,92	0,91	0,92
Total	10,45	10,27	10,14	10,08	10,04	9,88
Consommation(%)	0	1,7	3	3,5	3,9	5,5

Tableau 21 : Teneur en acides aminés totaux (g/100g) du cacao torréfié à 140°C en fonction du temps de chauffage - Témoin = cacao non torréfié

	Témoin	15 min	20 min	25 min	30 min
Ac aspartique	1,20	1,13	1,08	1,15	1,14
Thréonine	0,48	0,46	0,45	0,48	0,49
Sérine	0,67	0,61	0,61	0,63	0,63
Ac.glutamique	2,13	2,01	1,97	2,09	2,09
Glycine	0,53	0,47	0,42	0,49	0,47
Alanine	0,53	0,49	0,49	0,50	0,52
<u>Valine</u>	<u>0,63</u>	<u>0,63</u>	<u>0,59</u>	<u>0,63</u>	<u>0,64</u>
Méthionine	0,12	0,11	0,10	0,11	0,11
Isoleucine	0,43	0,40	0,39	0,41	0,40
<u>Leucine</u>	<u>0,76</u>	<u>0,73</u>	<u>0,68</u>	<u>0,72</u>	<u>0,71</u>
Tyrosine	0,48	0,45	0,48	0,48	0,50
<u>Phénylalanine</u>	<u>0,66</u>	<u>0,59</u>	<u>0,55</u>	<u>0,60</u>	<u>0,60</u>
Histidine	0,25	0,23	0,22	0,25	0,24
Lysine	0,64	0,59	0,53	0,59	0,58
Arginine	0,94	0,86	0,84	0,91	0,90
Total	10,45	9,76	9,40	10,05	10,02
Consommation(%)	0	6,6	10	3,8	4,1

1.1.2. Les sucres réducteurs

La quantité des sucres réducteurs diminue régulièrement en fonction de la température et du temps de torréfaction (tableaux 22 et 23). La dégradation du fructose est plus importante que celle du glucose pendant la torréfaction.

En fin de torréfaction (150°C 25 minutes ou 140°C 30 minutes), il reste à peu près 35% de la teneur initiale en sucres réducteurs.

Ces consommations sont faibles par rapport à celles de la littérature. La méthode OICC employée n'est peut-être pas adaptée ; en effet, il est possible qu'on dose plus d'impuretés que de sucres.

En réfractométrie, les sucres sont difficiles à doser pour des concentrations inférieures à 5 g/l, ce qui est le cas ici.

Tableau 22 : Teneur en sucres réducteurs (g/100g) du cacao torréfié à 140°C en fonction du temps de chauffage (dosage par CLHP). Témoin = cacao non torréfié

g/100 g cacao	Témoin	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min
Fructose	0,586	0,196	0,147	0,138	0,164	0,154
Glucose	0,163	0,108	0,110	0,139	0,089	0,097
Total	0,749	0,304	0,257	0,277	0,253	0,251
Consommation (%)	0	59,4	65,6	63	66,2	66,4

Tableau 23 : Teneur en sucres réducteurs (g/100g) de cacao torréfié 25 minutes en fonction de la température de chauffage (dosage en CLHP)
Témoin = cacao non torréfié.

g/100 g cacao	Témoin	110°C	120°C	130°C	140°C	150°C
Fructose	0,586	0,439	0,330	0,218	0,164	0,140
Glucose	0,163	0,121	0,133	0,101	0,089	0,116
Total	0,749	0,560	0,463	0,319	0,253	0,256
Consommation (%)	0	25,2	38,2	57,4	66,2	65,8

1.1.3. Les procyanidols (structure voir annexe IV)

Le rapport B2 (dimère de l'épicatéchol) / épicatéchol est sensiblement constant et le rapport C1 (trimère de l'épicatéchol) / épicatéchol diminue pendant la torréfaction (tableau 24). Ceci tend à prouver que les oligomères de l'épicatéchol participent également à la formation de l'arôme cacao.

Après torréfaction 37% de la quantité initiale d'épicatéchol est détruite.

Tableau 24 : Teneur en (-) épicatechol (g/100 g) du cacao et rapports des oligomères de l'épicatechol en fonction de la torréfaction.

	épicatechol (g/100 g)	B2/épicatechol	C1/épicatechol
non torréfié	0,485	0,46	0,50
torréfié (140°C 25 min)	0,306	0,43	0,32

1.1.4. Bilan

Nous avons calculé les rapports des sucres - acides aminés libres en fonction du temps (tableau 25) et de la température (tableau 26).

- rapport de consommation sucres - acides aminés au temps t

$$R_t = \frac{Q_{St}}{Q_{At}} \quad Q_{St} = \% \text{ de sucres détruits en temps } t.$$

$$Q_{At} \quad Q_{At} = \% \text{ d'acides aminés détruits au temps } t.$$

- rapport de consommation à la température T

$$R_T = \frac{Q_{ST}}{Q_{AT}} \quad Q_{ST} = \% \text{ de sucres détruits à la température } T.$$

$$Q_{AT} \quad Q_{AT} = \% \text{ d'acides aminés détruits à la température } T.$$

Tableaux 25 : Rapport R_t en fonction du temps de torréfaction

Temps en min	10	15	20	25	30
R_t	2,2	1,9	2,7	2,2	1,8

Tableaux 26 : Rapport R_T en fonction de la température de torréfaction.

Température °C	110	120	130	140	150
R_T	1,8	2,0	2,0	2,2	1,6

Ce rapport de consommation exprimé par rapport au temps ou à la température est quasiment constant (proche de 2). Il semble que la vitesse relative de consommation des précurseurs dosés soit constante durant la torréfaction.

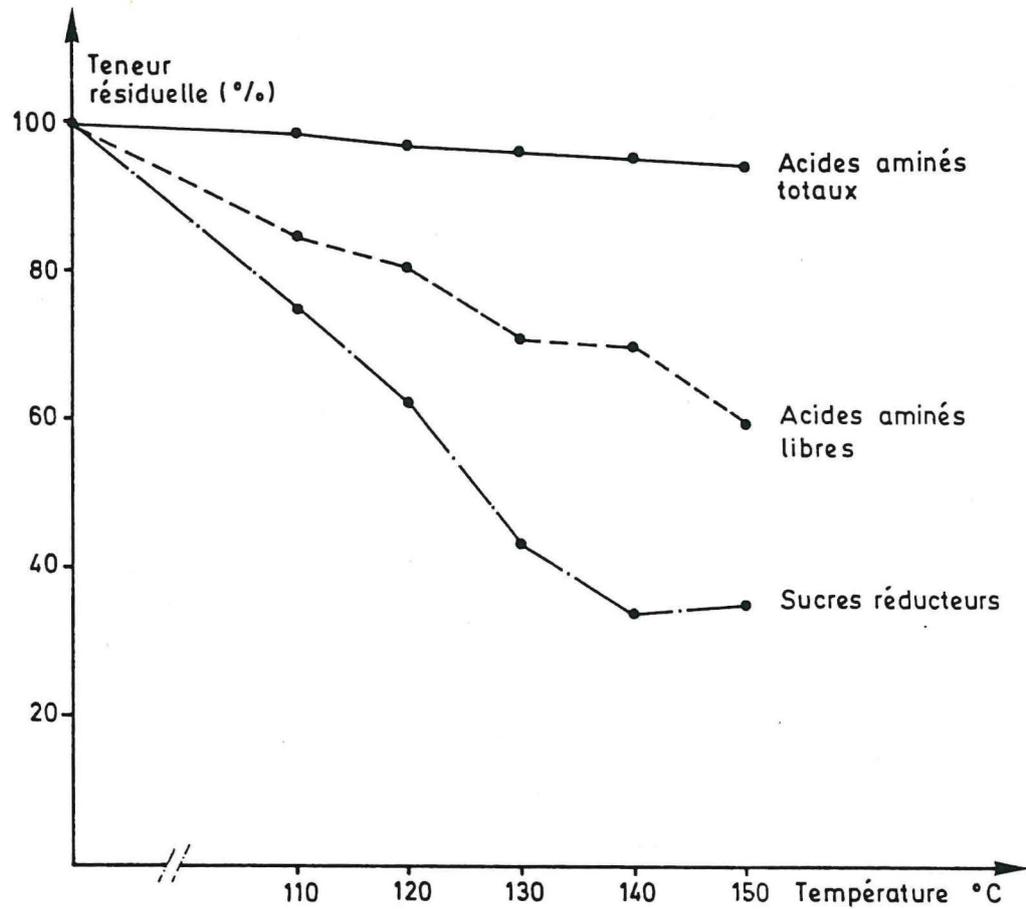


Figure 15 : Consommation des acides aminés et des sucres réducteurs en fonction de la température.

La figure 15 montre qu'à 150°C il reste encore 35% des sucres réducteurs et 60% des acides aminés sous forme libre. Il est donc possible d'augmenter la consommation des précurseurs, en utilisant des températures de torréfaction plus élevées ou des durées plus longues.

1.2. Optimisation de la torréfaction

Sur un lot de cacao différent (deuxième lot), nous avons essayé de déterminer des conditions de torréfaction pour consommer un maximum de précurseurs, en utilisant des températures supérieures à 150°C.

La dégradation d'une quantité accrue de précurseurs n'est pas nécessairement le seul critère d'optimisation à retenir, il faut prendre soin de ne pas générer des arômes indésirables (grillé, brûlé, arachide) par un chauffage trop violent.

En effet il est important de pouvoir apprécier l'effet du traitement sur l'arôme cacao, non seulement en dégustant les chocolats élaborés dans ces conditions de torréfaction, mais en suivant également l'évolution des pyrazines considérées comme un bon marqueur de la torréfaction (ZIEGLER 1982a).

1.2.1. Consommation des précurseurs en fonction de la température de torréfaction

L'utilisation de températures supérieures à 150°C permet de consommer plus de 70% des acides aminés, et la totalité des sucres réducteurs (tableaux 27, 28, 29).

Le rapport RT moyen de consommation sucres - acides aminés est respectivement de 2,8 et 2,1 pour les températures 140°C et 150°C, pour une durée de 25 minutes. Dans ces conditions 97% des sucres réducteurs sont détruits. Ce rapport de consommation pour des températures supérieures perd toute signification car les sucres sont détruits en totalité à partir de 160°C.

Rappelons que le dosage par CLHP conduisait à des valeurs bien inférieures (66% de sucres réducteurs paragraphe 1.1.2). Les résultats obtenus par dosage enzymatique semblent alors confirmer que le dosage par réfractométrie est effectué par excès. Celui-ci sera désormais abandonné pour tous les dosage concernant les cacaos torréfiés.

Tableau 27 : Teneur en acides aminés sous forme libre (g/100 g) du cacao torréfié pendant 15 minutes en fonction de la température.

Témoin = cacao non torréfié.

	Témoin	150°C	160°C	170°C
Ac aspartique	0,027	0,026	0,025	0,023
Ac glutamique	0,078	0,043	0,039	0,010
Asparagine	0,041	0,033	0,029	0,017
Sérine	0,037	0,029	0,026	0,020
Glutamine	0,020	0,015	0,014	0,009
Histidine	0,025	0,012	0,011	0,007
Glycine	0,012	0,010	0,009	0,008
Thréonine	0,040	0,026	0,022	0,014
Arginine	0,067	0,058	0,053	0,041
Alanine	0,079	0,064	0,057	0,046
γ butyrolactone	0,027	0,019	0,015	0,008
Tyrosine	0,053	0,042	0,037	0,033
Méthionine	0,007	0,006	0,005	0,004
Valine	0,061	0,047	0,043	0,029
Phénylalanine	0,087	0,067	0,060	0,036
Isoleucine	0,037	0,031	0,029	0,019
Leucine	0,120	0,097	0,077	0,041
Lysine	0,037	0,024	0,018	0,013
Total	0,855	0,649	0,569	0,378
Consommation (%)	0	24,1	33,5	55,8

Tableau 28 : Teneur en acides aminés sous forme libre du cacao torréfié pendant 25 minutes en fonction de la température. Témoin = cacao non torréfié.

	Témoin	140°C	150°C	160°C	170°C
Ac aspartique	0,027	0,023	0,022	0,021	0,016
Ac glutamique	0,078	0,034	0,017	0,009	0,006
Asparagine	0,041	0,027	0,023	0,014	0,009
Sérine	0,037	0,025	0,022	0,017	0,013
Glutamine	0,020	0,013	0,010	0,008	0,006
Histidine	0,025	0,010	0,008	0,006	0,005
Glycine	0,012	0,011	0,008	0,007	0,006
Thréonine	0,040	0,021	0,016	0,013	0,009
Arginine	0,067	0,050	0,042	0,037	0,029
Alanine	0,079	0,054	0,049	0,041	0,030
γ butyrolactone	0,027	0,017	0,012	0,007	0,004
Tyrosine	0,053	0,037	0,042	0,025	0,023
Méthionine	0,007	0,007	0,004	0,003	0,002
Valine	0,061	0,044	0,036	0,027	0,018
Phénylalanine	0,087	0,057	0,049	0,034	0,020
Isoleucine	0,037	0,027	0,024	0,018	0,012
Leucine	0,120	0,081	0,061	0,039	0,023
Lysine	0,037	0,025	0,019	0,013	0,010
Total	0,855	0,563	0,464	0,339	0,241
Consommation (%)	0	34,1	45,7	60,3	71,8

Tableau 29 : Teneur en sucres réducteurs (g/100g) du cacao torréfié en fonction de la température (dosage par voie enzymatique).

		Témoin	140°C	150°C	160°C	170°C
15 min	Fructose	0,472	-	0,040	0,030	0
	Glucose	0,135	-	0	0	0
	Total	0,607	-	0,040	0,030	0
	Consommation (%)	0	-	93,4	95	100
25 min	Fructose	0,472	0,015	0,014	0	0
	Glucose	0,135	0	0	0	0
	Total	0,607	0,015	0,014	0	0
	Consommation (%)	0	97,5	97,7	100	100

Témoin = cacao torréfié

Rq : Dosage témoin en CLHP. Fructose = 0,514 %, glucose = 0,152 %

1.2.2. Evaluation organoleptique des chocolats

L'évaluation organoleptique est effectuée selon une échelle hédonique relative à l'appréciation globale de l'échantillon et au caractère aromatique.

Un chocolat est élaboré pour chaque condition de torréfaction (tableau 30).

Tableau 30 : Conditions de torréfaction des échantillons de chocolats.

échantillon	1	2	3	4	5	6
température (%)	140	150	150	160	160	170
temps en (en minutes)	25	15	25	15	25	15

Les chocolats 5 et 6 présentent des goûts d'arachide grillée et de brûlé ; nous n'avons pas élaboré de chocolat pour les conditions de torréfaction 170°C 25 minutes. La moyenne des notes obtenues est indiquée dans le tableau 31.

Tableau 31: Moyenne des notes obtenues par les chocolats lors de la dégustation. (Note sur 10).

échantillon	1	2	3	4	5	6
note de synthèse	6,83	6,44	5,44	6,50	2,88	2,55
note du caractère aromatique	6,28	5,57	4,85	5,85	3,71	3,14

L'analyse statistique des résultats de dégustation est effectuée de la manière suivante :

- transformation des notes de chaque dégustateur en classement par rang,
- normalisation de la distribution précédente,
- analyse de la variance (indique s'il existe des différences significatives entre des échantillons) (valeur de F),
- détermination des différences significatives entre échantillons, (test de Newman et Keuls)
- classement des échantillons.

Les résultats de cette analyse permettent de distinguer trois classes d'échantillons au niveau du caractère aromatique et de l'appréciation globale.

- appréciation globale : $F_{54}^5 = 8,537$ (significativité > 1°/°°)

classement par ordre décroissant : $\overline{1, 4, 2, 3}, \overline{6}, \overline{5}$

- caractère aromatique : $F_{54}^5 = 22,59$ (significativité > 1°/°°)

classement par ordre décroissant : $\overline{1, 2, 4}$ $\overline{3}$ $\overline{6, 5}$

Les résultats de ces tests organoleptiques indiquent que les chocolats 1, 2, 4 présentent le meilleur arôme.

L'accroissement de la consommation en précurseurs ne conduit pas forcément à l'obtention d'un chocolat à l'arôme plus développé. En effet, les résultats des dégustations montrent que le chocolat 4 présente un meilleur arôme que le chocolat 3. Pourtant dans le cas de l'échantillon 4, 33,5% des acides aminés et 95% des sucres réducteurs sont consommés, alors que pour l'échantillon 3 ces valeurs atteignent respectivement 45,7% et 97,7%.

1.2.3. Evolution de la teneur en pyrazines en fonction des conditions de torréfaction

La quantité de pyrazines croît avec le niveau de torréfaction, la croissance est plus importante pour les diméthyl pyrazines et la triméthyl pyrazine, que pour la tétraméthyl pyrazine qui est le composé majeur (tableau 32).

Tableau 32 : Teneur en pyrazines (mg/kg) du cacao en fonction des conditions de torréfaction.

Echantillon	1	2	3	4	5
Méthyl pyrazine	1,2	1,4	1,1	2,2	2,6
Diméthyl-2,5 pyrazine	2,4	2,7	2,9	4,7	5,6
Diméthyl-2,6 pyrazine	0,6	0,7	0,7	1,2	1,5
Diméthyl-2,3 pyrazine	0,5	0,6	0,8	1,3	1,5
Total diméthyl pyrazine	3,6	4,0	4,3	7,3	8,5
Triméthyl pyrazine	3,8	3,6	4,6	7,4	9,0
Tétraméthyl pyrazine	10,7	9,7	13,2	14,8	16,4
Total pyrazine	19,2	18,7	23,2	31,7	36,4

Ces teneurs en pyrazines sont plus élevées que celles citées dans la littérature (voir le tableau comparatif n° 33). Il faut noter que ces teneurs dépendent également de l'origine du cacao. Un cacao Arriba, réputé pour la finesse de son arôme, a une teneur en pyrazines très inférieure à un cacao du Ghana ou de Côte d'Ivoire.

Tableau 33 : Teneur en pyrazines (mg/kg) du cacao en fonction de la torréfaction et de l'origine.

origine	Cote d'ivoire	Ghana	Arriba
150°C 15 min	18,7 (a)	4,0 (b)	7,4 (c)
150°C 30 min	23,2 * (a)	7,0 (b)	2,4 (b)
160°C 15 min	31,7 (a)	24,5 (c)	10,8 (c)
a = cf tableau	b= REINECCIUS et al. 1972	c= ZIEGLEDER 1982	
* Temps de torréfaction 25 minutes			

Les rapports diméthyl-2,5 pyrazine (2,5 DMP) sur triméthyl pyrazine (TrMP) sur tétraméthyl pyrazine (TMP), selon ZIEGLEDER (1982a) permettent d'apprécier le niveau de torréfaction d'un échantillon de cacao (tableau 34).

Tableau 34 : Rapport 2,5 DMP/TrMP et 2,5 DMP/TMP en fonction du niveau de torréfaction.

Niveau de torréfaction	2,5 DMP/TMP	2,5 DMP/TrMP
normal	0 - 0,6	0 - 1,0
foncé	0,3 - 1,0	0,7 - 1,5
brûlé	1,0	1,5

Les bornes des valeurs indiquées par l'auteur n'ont guère de signification dans notre cas, en effet le chocolat n° 5 (160°C 25 minutes) présente des goûts d'arachide grillée et de brûlé, or les valeurs des rapports 2,5 DMP/TMP et 2,5 DMP/TrMP sont respectivement de 0,34 et 0,62.

Les chocolats appartenant à un même classement organoleptique présentent des différences de teneur importantes en pyrazines. Par exemple 19,2 mg/kg pour l'échantillon n° 1 et 31,7 mg/kg pour l'échantillon n° 4, ce qui représente un écart de près de 65%.

Ainsi il paraît très difficile d'établir une corrélation simple entre la teneur en pyrazines et les résultats des tests organoleptiques. Nous pouvons simplement constater qu'à partir d'un certain seuil en pyrazines, le cacao présente des goûts indésirables. Ce seuil est propre à chaque cacao et dépend entre autres du niveau de fermentation de l'échantillon.

L'augmentation de la consommation en précurseurs d'arôme pendant la torréfaction n'est pas un but, elle permet dans certaines limites d'améliorer l'arôme du chocolat, en exploitant la totalité du potentiel aromatique présent sous forme de sucres réducteurs et d'acides aminés dans le cacao.

Ainsi les conditions de torréfaction, 140°C pendant 25 minutes, représentent un bon compromis entre la consommation en précurseurs et une bonne perception de l'arôme du chocolat obtenu, et peuvent être considéré comme les conditions "optimales" de torréfaction sur nibs pour du cacao Aménolado de Côte d'Ivoire.

2. Influence de la torréfaction sur la dégradation des précurseurs

Un troisième lot de cacao a été utilisé pour l'ensemble des expérimentations décrites ci-après, en particulier pour une étude systématique entre 110°C et 170°C pour tenter de rechercher une relation entre les paramètres de torréfaction, la consommation des précurseurs, le développement des pyrazines et des aldéhydes.

2.1. Sucres réducteurs et acides aminés

Alors qu'entre 130°C et 140°C, les sucres réducteurs sont presque entièrement détruits, il reste encore la moitié des acides aminés (figure 19). A partir de 150°C, la consommation des sucres réducteurs du cacao est totale, or parallèlement des goûts indésirables apparaissent. A ce niveau de torréfaction, seuls les acides aminés sont dégradés et vraisemblablement conduisent à d'autres voies de synthèse de composés aromatiques (la teneur résiduelle en acides aminés baisse jusqu'à 10% à 170°C).

La consommation en précurseurs, notamment des acides aminés, est supérieure à celle enregistrée lors de l'étude préliminaire (lot de cacao différent de même origine) (Annexes V et VI).

D'autre part, à 110 et 120°C, la dégradation du glucose est plus importante que celle du fructose (Annexe VII).

Nos résultats sont en bon accord avec ceux de ROHAN et STEWART (1967) effectués sur des extraits torréfiés de précurseurs de cacao (Figure 16).

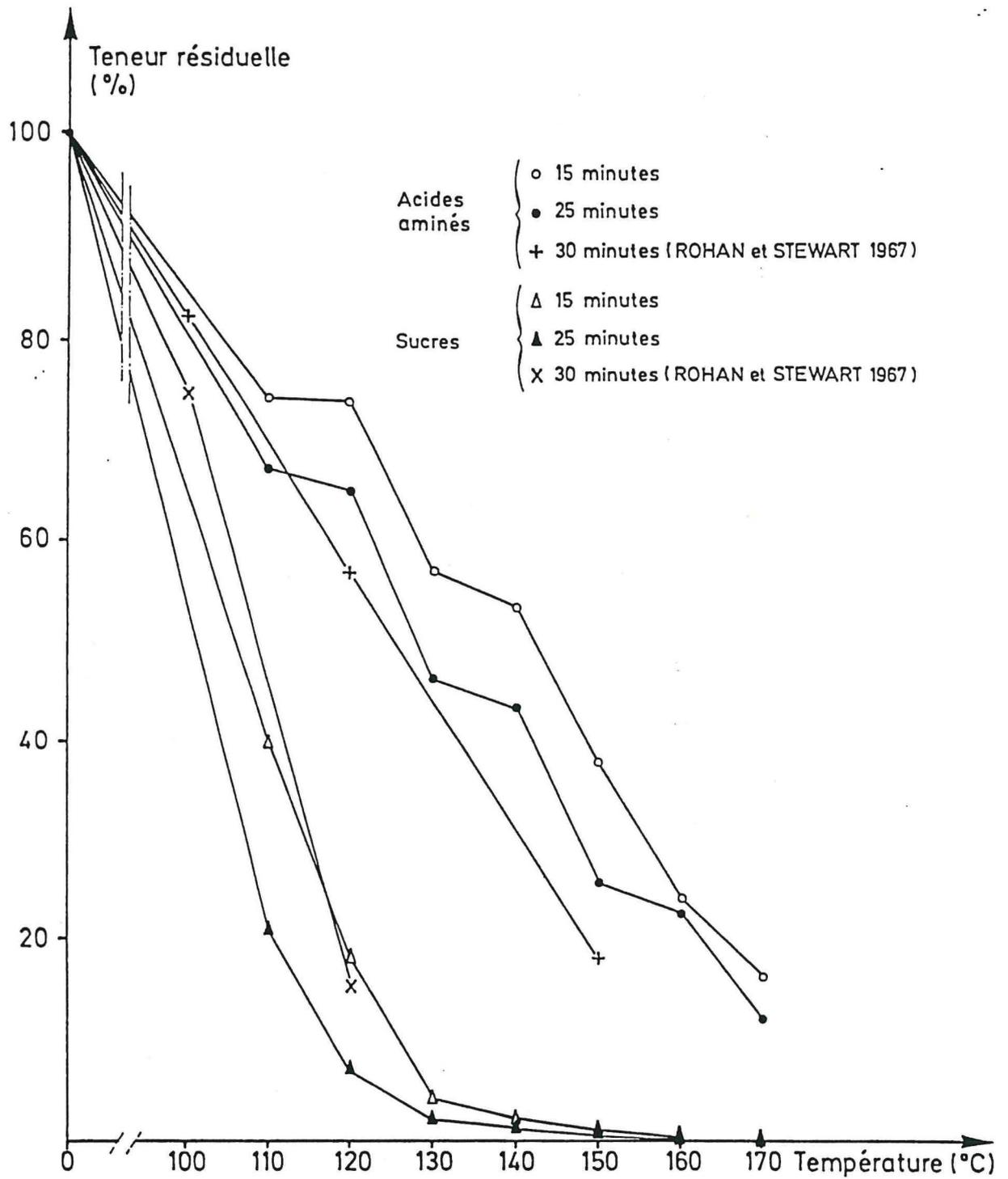


Figure 16 : Evolution des sucres réducteurs et des acides aminés en fonction de la température de torréfaction.

2.2. L'épicatéchol

Les résultats obtenus sur deux séries de mesures montrent que la teneur en épicatéchol décroît de façon quasi-linéaire en fonction de la température (Figure 17, Annexe VIII). Pour les températures inférieures à 130°C, l'influence du temps de torréfaction est plus importante que la température proprement dite, quand celle-ci augmente l'influence du temps devient négligeable.

La disparition de l'épicatéchol et de ses oligomères (paragraphe 1.1.3) tendrait à prouver leur participation dans le développement de l'arôme cacao torréfié sans qu'il soit encore possible d'en préciser le rôle exact.

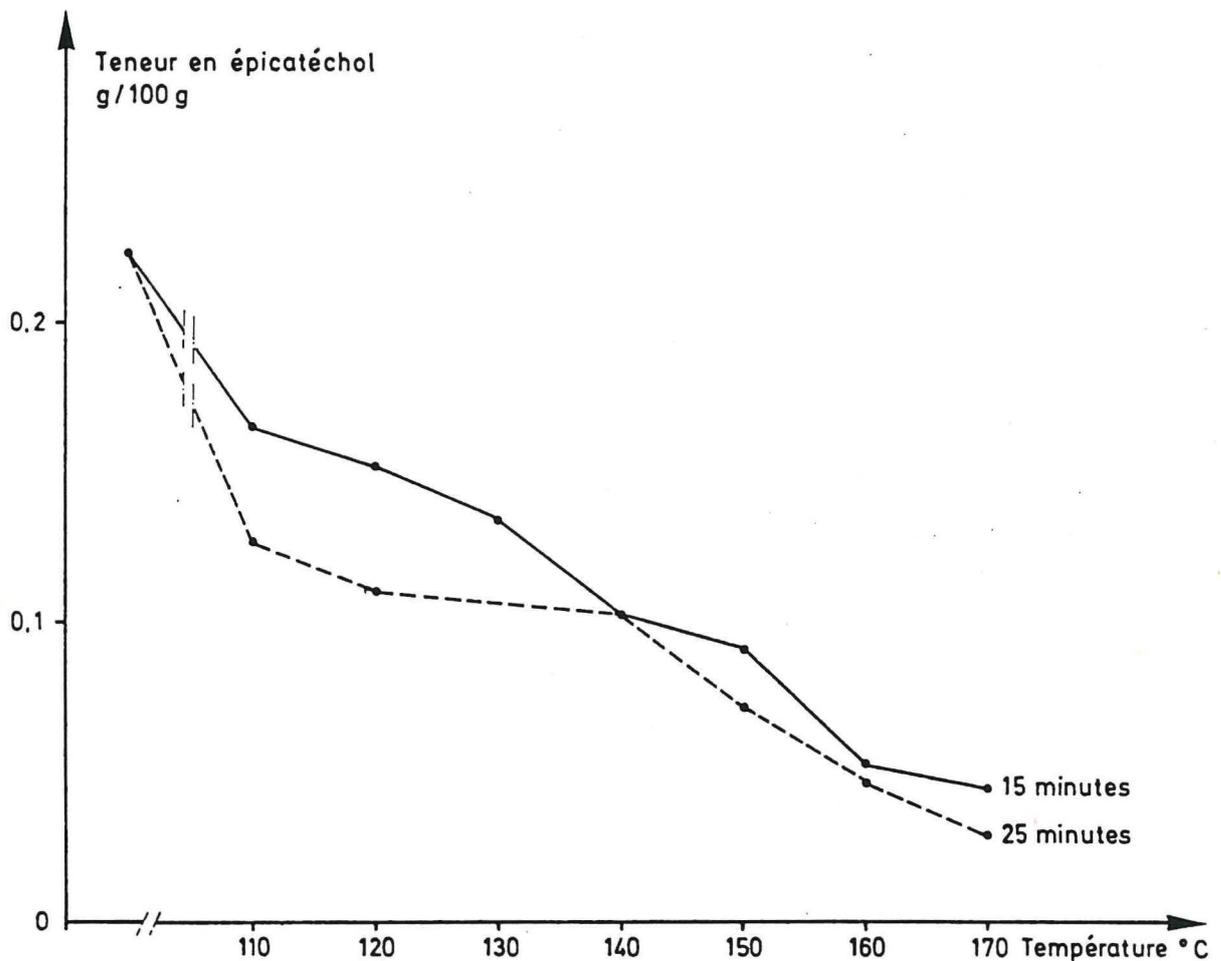


Figure 17 : Evolution de la teneur en épicatéchol en fonction de la température de torréfaction.

3. Influence de la torréfaction sur la formation des composés volatils

Les résultats suivants correspondent à la moyenne de deux séries d'expérimentation.

3.1. Les pyrazines

3.1.1. Influence de la température

Les pyrazines présentent une évolution croissante en fonction de la température de torréfaction (Figure 18, Annexe IX). Cette croissance est plus importante pour les diméthyl pyrazines et la triméthyl pyrazine que pour la tétraméthyl pyrazine, qui est cependant la pyrazine majeure.

Ces résultats sont en accord avec ceux de BEAUHAIRE 1978, mais en contradiction avec les travaux de ZIEGLER (1982a), qui indique que l'évolution de la teneur en tétraméthyl pyrazine en fonction de la température (110°C à 160°C) est une courbe en cloche présentant un maximum à 130°C. D'autre part, cet auteur signale qu'à 160°C la teneur en diméthyl-2,5 pyrazine est supérieure à celle de la tétraméthyl pyrazine.

Dans le cas de systèmes modèles, KOEHLER et ODELL (1979) observent entre 100°C et 150°C une augmentation de la teneur en méthyl pyrazine et diméthyl-2,5 pyrazine en fonction de la température ; au-dessus de 150°C une diminution de la concentration de ces composés. Ils concluent alors à la destruction ou à la volatilisation des pyrazines pour des températures supérieures à 150°C. SHIBAMOTO et BERNHARD (1976) observent la même évolution des alkyl pyrazines (méthyl pyrazine, diméthyl pyrazines, triméthyl pyrazine) pour l'intervalle de températures 70°C-120°C et au-dessus de 120°C.

La tétraméthyl pyrazine est présente en quantité importante dans le cacao torréfié fermenté. Il semble que ce composé soit essentiellement formé pendant la fermentation, par les micro-organismes (ZAK et al. 1972), ou par réaction biochimique à partir de l'hydroxy-3 butanone-2 (RIZZI 1988). La quantité de tétraméthyl pyrazine d'origine thermique serait faible (cf. résultats chapitre III).

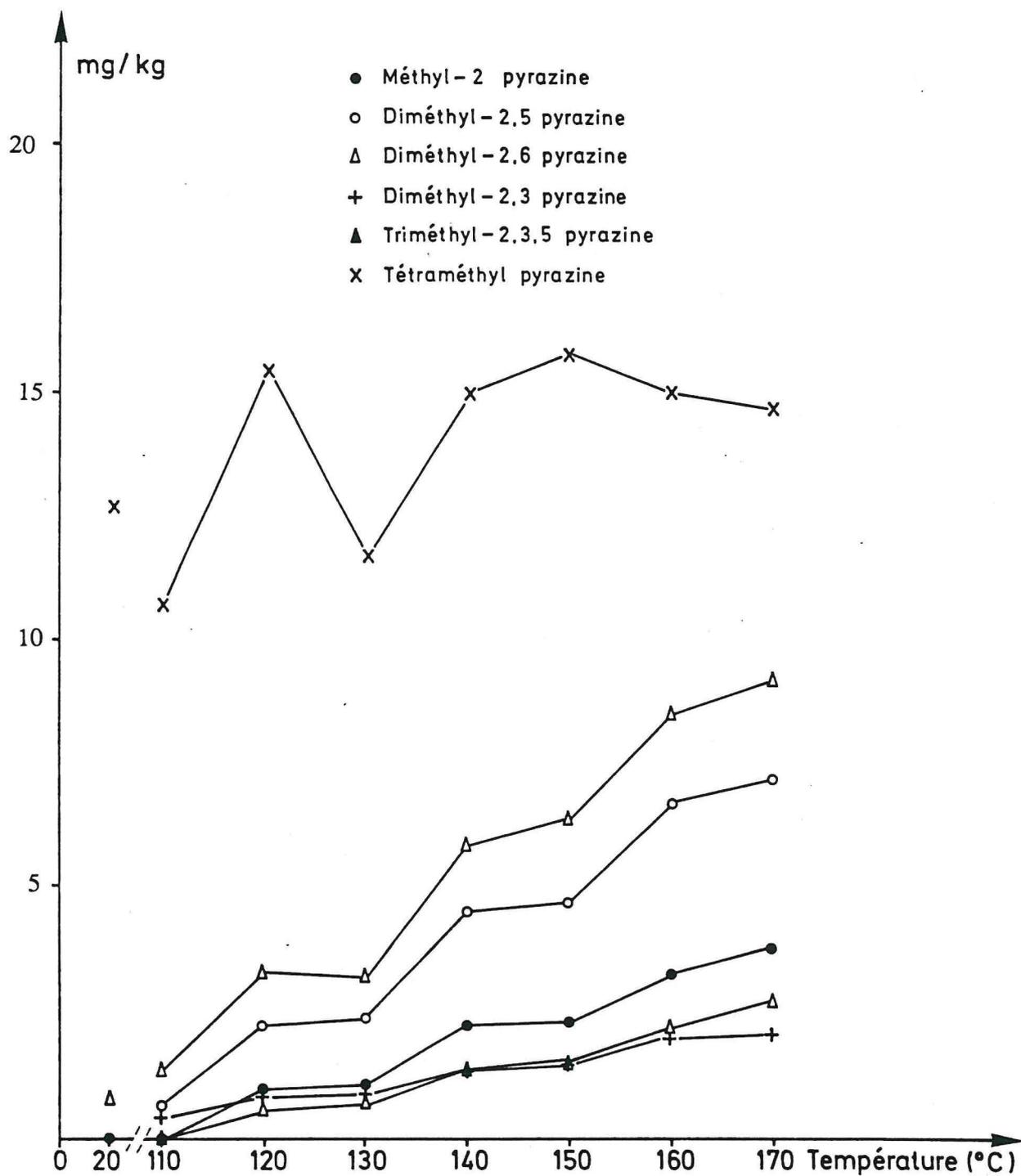


Figure 18 : Evolution de la teneur en pyrazines du cacao en fonction de la température de torréfaction (durée 25 minutes).

3.1.2. Cinétique de formation des pyrazines

L'évolution de la teneur totale en pyrazine en fonction de la durée de torréfaction est une courbe en cloche avec un maximum à 25 minutes (ces paramètres correspondent aux conditions optimales de torréfaction définies au paragraphe 1) (Figure 22, Annexe X). Sous réserve d'une troisième confirmation, une telle cinétique est différente de celles observées dans le cas du café (CROS et al. 1979) et du cacao (REINECCIUS et al. 1972a).

Dans le cas de systèmes modèles, KOEHLER et ODELL (1970) à 120°C, SHIBAMOTO et BERNHARD (1976) à 100°C, observent une augmentation de la teneur en alkyl pyrazines en fonction de la durée de torréfaction.

La partie décroissante peut s'interpréter par la compétition entre la volatilisation et la formation des produits. La consommation totale des sucres entraîne la disparition d'une des sources de composés dicarbonylés participant à la formation des alkyl pyrazines.

D'après les résultats précédents, la teneur en tétraméthyl pyrazine n'est pas un bon marqueur du niveau de torréfaction ; en revanche, les teneurs des autres alkyl pyrazines, particulièrement la diméthyl-2,5 pyrazine, le sont. Cependant cette affirmation est à moduler pour les longues durées de torréfaction (Figure 19), où la disparition de certains précurseurs, notamment les sucres réducteurs, empêche la synthèse des méthyl pyrazines.

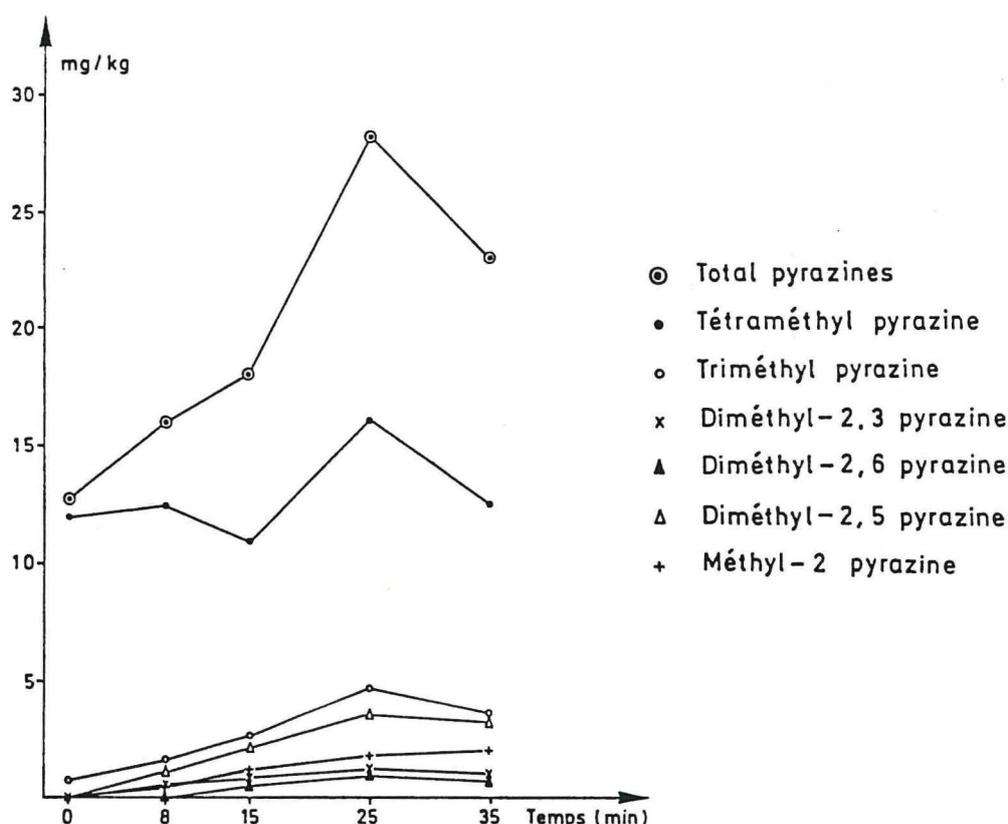


Figure 19 : Evolution des méthyl pyrazines en fonction de la durée de torréfaction à 140°C.

3.2. Les aldéhydes

Les teneurs que nous avons déterminées dans ce paragraphe concernent des aldéhydes dont le taux de recouvrement est faible (cf. Chapitre II). Ces teneurs en aldéhydes décrivent leur évolution en fonction des paramètres de torréfaction, mais elles ne correspondent pas aux concentrations réelles dans les fèves de cacao.

3.2.1. Influence de la température

Pour des torréfactions de 25 minutes, l'évolution de la teneur totale en aldéhydes, due en particulier à l'isovaléraldéhyde et au phénylacétaldéhyde, présente un maximum à 120°C (Figure 20).

La teneur en isovaléraldéhyde et en phénylacétaldéhyde suit cette évolution (Figure 20, Annexe XI), en revanche pour les autres aldéhydes dont la teneur est beaucoup plus faible (inférieure à 3 mg/kg), il ne semble pas que l'on puisse confirmer une telle évolution.

A 110°C la teneur en aldéhydes est inférieure à celle du cacao fermenté non torréfié. A cette température, il est possible que la quantité de produits formés ne suffise pas à compenser les pertes par volatilisation.

Les teneurs en isovaléraldéhyde et phénylacétaldéhyde diminuent à partir de 130°C quand les sucres réducteurs sont presque totalement consommés (Figure 22).

En effet, malgré la présence encore importante d'acides aminés (environ 50%), leur dégradation suivant le schéma de Strecker serait stoppée par la disparition des sucres réducteurs. Ainsi la totalité des aldéhydes de Strecker serait formée à la température de 130°C, et l'augmentation de température ne contribuerait globalement qu'à éliminer ces produits par volatilisation ou par condensation.

Ces résultats sont en désaccord avec ceux de ZIEGLER (1982b), qui indiquent que les teneurs en isobutyraldéhyde et isovaléraldéhyde augmentent avec la température (Tableau 7).

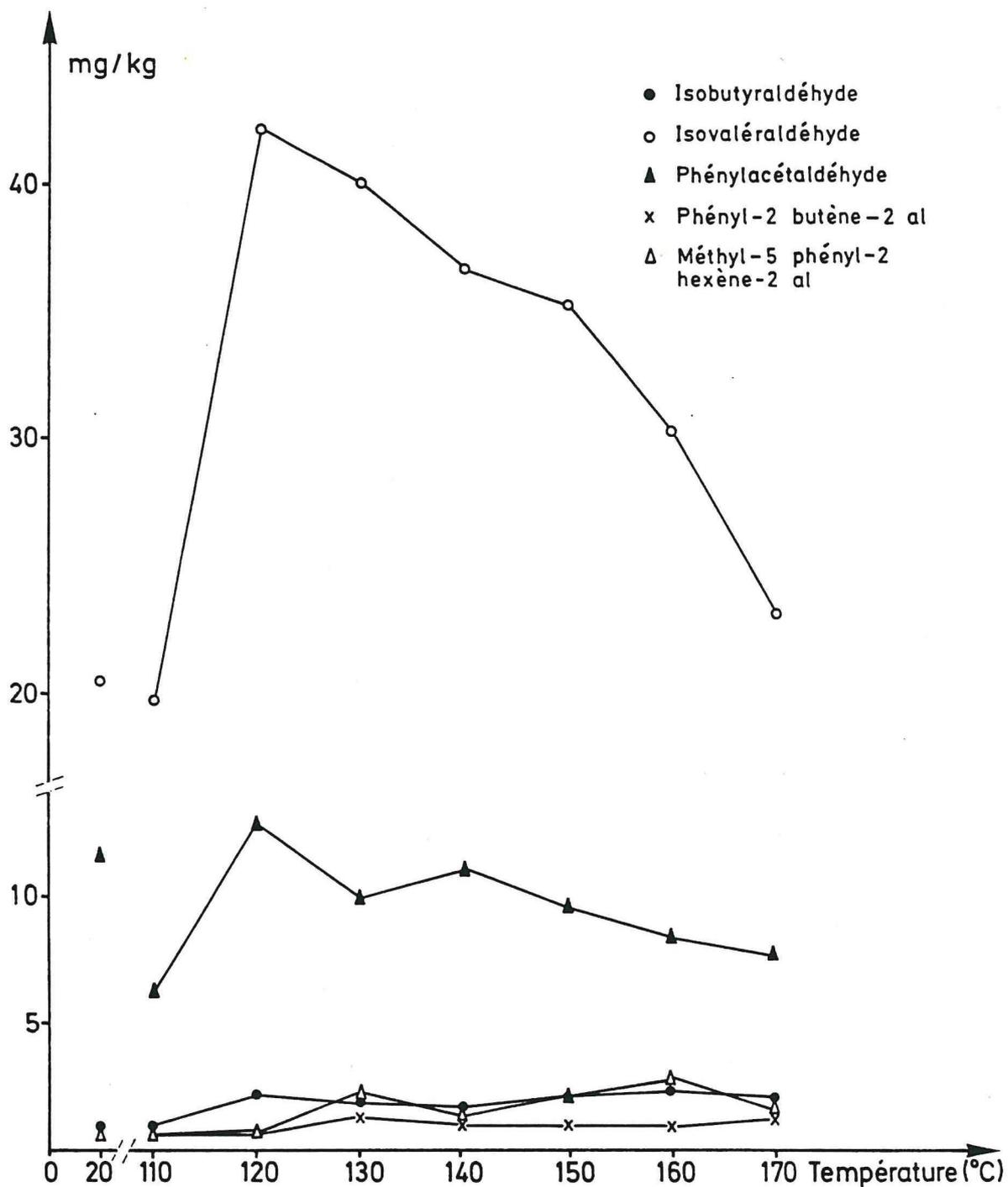


Figure 20 : Evolution de la teneur en aldéhydes du cacao en fonction de la température de torréfaction (durée 25 minutes).

3.2.2. Cinétique de formation des aldéhydes

L'évolution des teneurs en isovaléraldéhyde et phényl-2 butène-2 al présente un maximum à 8 minutes, pour le phénylacétaldéhyde et le méthyl-5 phényl-2 hexène-2 al, ce maximum est à 15 minutes (Figure 21, Annexe XII). Cependant il convient d'être prudent avec les évolutions des aldéhydes en quantité très faible.

Après 15 minutes, la totalité des aldéhydes est formée. Ces produits sont donc formés très rapidement au cours de la torréfaction, et il semble que la prolongation de la durée de torréfaction volatilise les aldéhydes contenus dans les nibs.

SCHNEE et EICHNER (1987), pour une température de torréfaction de 130°, ont observé une augmentation de la teneur en isovaléraldéhyde jusqu'à 5 minutes, puis une diminution jusqu'à 10 minutes et un nouvel accroissement de la teneur entre 10 et 20 minutes.

3.3. Bilan

L'évolution des précurseurs et des composés volatils en fonction de la température de torréfaction pour une durée de 25 minutes est résumée par la figure 22.

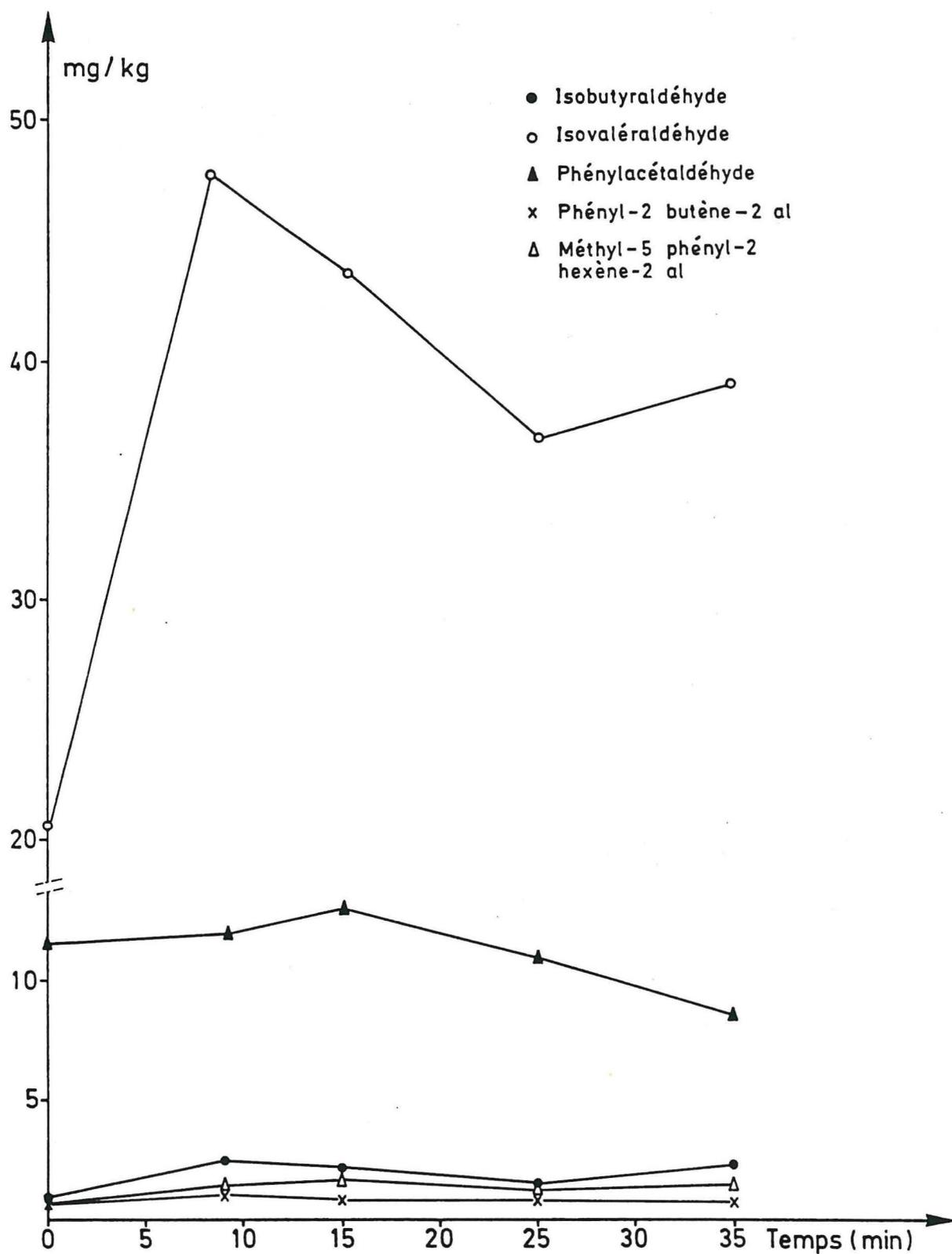


Figure 21 : Evolution de la teneur en aldéhydes du cacao en fonction du temps de torréfaction à 140°C.

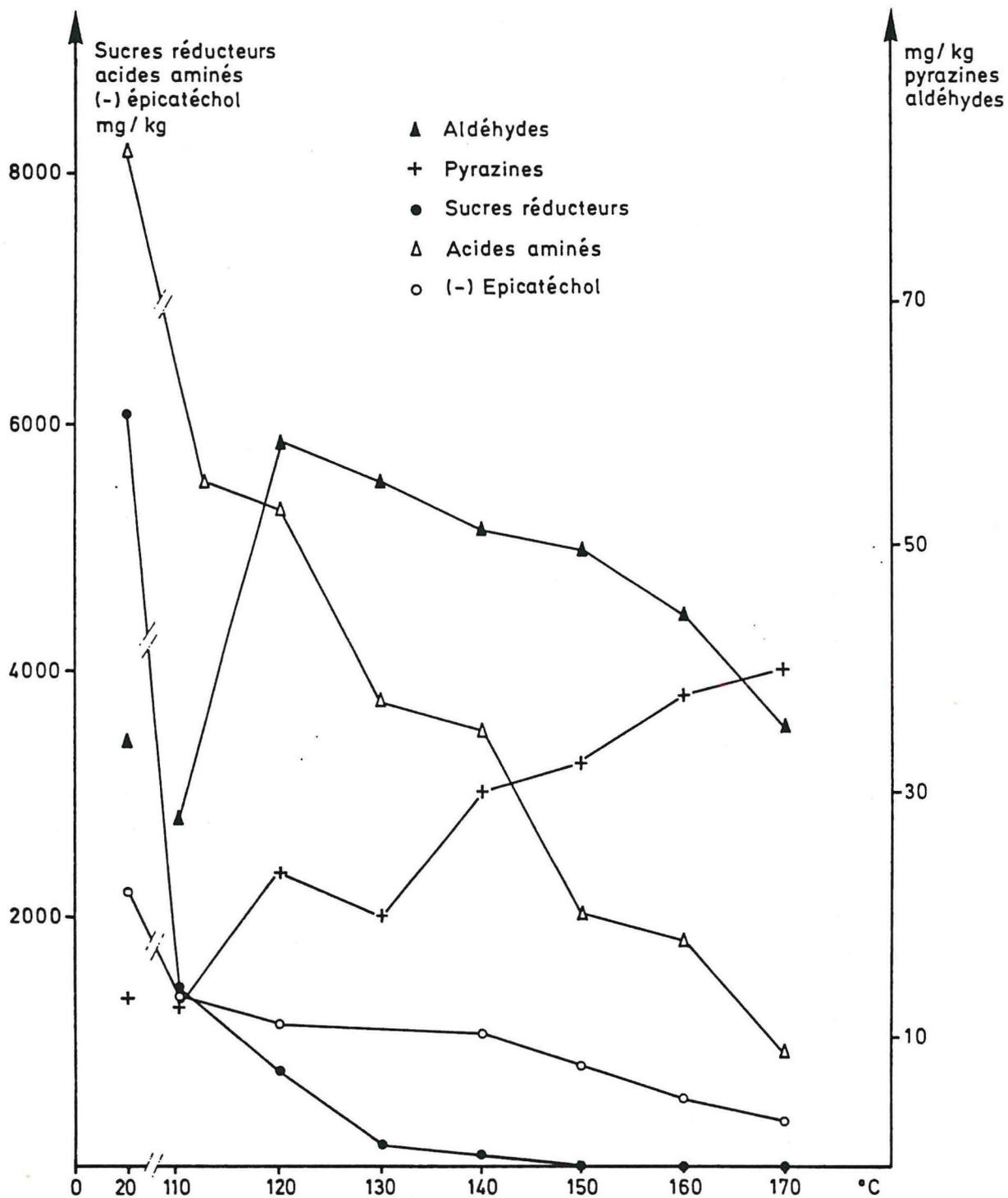


Figure 22 : Evolution des précurseurs et des composés volatils en fonction de la température de torréfaction (25 minutes).

4. Conclusion

Ces résultats constituent un ensemble de renseignements homogènes sur l'évolution des principaux précurseurs d'arôme et des composés majeurs de l'arôme cacao pendant la torréfaction.

L'étude de la consommation des précurseurs a été effectuée directement sur le cacao, et non pas sur des extraits de précurseurs de cacao.

A partir de 130°C, la disparition du fructose et du glucose constitue un facteur limitant des réactions de Maillard internes au cacao durant la torréfaction ; à ce stade, la moitié des acides aminés sous forme libre est encore présente.

Les premiers résultats sur la dégradation de l'épicatéchol en fonction de la température de torréfaction tendent à prouver son implication dans la formation de l'arôme.

Nous avons montré que l'augmentation de la consommation en précurseurs d'arôme pendant la torréfaction permet, dans certaines limites, d'optimiser la formation de l'arôme du chocolat en exploitant la totalité du potentiel aromatique présent sous forme de sucres réducteurs et d'acides aminés dans le cacao. Une consommation accrue des acides aminés entraîne des goûts indésirables de grillé, quand il n'y a plus de sucres réducteurs.

L'étude de la consommation des précurseurs et les tests organoleptiques nous ont permis de déterminer des conditions de torréfaction (140°C 25 minutes) en laboratoire sur nibs de cacao, permettant d'exprimer au mieux ce potentiel aromatique.

L'évolution des teneurs des principaux aldéhydes du cacao, en fonction de la torréfaction, a été étudiée pour la première fois.

Les aldéhydes se forment rapidement au cours de la torréfaction, leur teneur est plus élevée pour des températures de torréfaction de l'ordre de 120°C.

Les pyrazines se forment plus lentement au cours de la torréfaction et leur teneur est une fonction croissante de la température.

Cette évolution est très sensible pour la triméthyl pyrazine et les diméthyl pyrazines.

La teneur en tétraméthyl pyrazine qui est pourtant le composé majeur varie relativement peu en fonction de la torréfaction.

Il semble que ce composé soit formé principalement pendant la fermentation, et ne soit pas formé exclusivement, comme les autres pyrazines, pendant le traitement thermique.

Si la teneur en pyrazines est un indicateur du niveau de torréfaction, il faut se limiter aux diméthyl pyrazines et à la triméthyl pyrazine. L'établissement de rapport pour ces composés pour estimer le niveau de torréfaction, en règle générale (ZIEGLER 1982a), demeure délicat. Nos résultats ne concordent pas avec ceux de cet auteur.

De façon générale, il paraît difficile d'établir une relation simple entre ces composés volatils et les qualités organoleptiques d'un chocolat.

CHAPITRE V

OPTIMISATION DU DEVELOPPEMENT DE L'AROME DE CACAO

V - OPTIMISATION DU DEVELOPPEMENT DE L'AROME CACAO

1. Présentation du problème

Dans ce chapitre nous étudions la possibilité d'augmenter le caractère aromatique d'un échantillon de cacao.

Avec moins de matière première, nous avons essayé d'obtenir la même perception aromatique. Initialement nous nous sommes fixés comme objectif d'économiser 20% de cacao.

Une série de travaux préliminaires a permis d'envisager différentes solutions pour augmenter la formation de l'arôme cacao, apprécier la faisabilité scientifique et technique d'une telle étude.

La première solution envisagée est la récupération des produits formés lors de la torréfaction. En effet, dans le cas du café, SHIN et CROUZET (1981) ont montré qu'il était possible de récupérer 85% des composés volatils présents dans les gaz émis lors de la torréfaction. De plus, nous avons précédemment montré (MERMET non publié) qu'une grande quantité de composés était perdue lors de la torréfaction du cacao.

Pour piéger les composés volatils émis pendant la torréfaction, nous avons testé plusieurs dispositifs pour juger la qualité aromatique de ces produits ; un seul s'est révélé efficace et permet de récupérer trois fractions. Celles-ci ont été soumises à un examen olfactif. La fraction la moins volatile possède une odeur de noisette et d'amande grillée, les autres fractions une saveur âcre, aucune ne présente une odeur chocolatée. Les trois fractions réunies ne présentent pas non plus d'arôme cacao. C'est pourquoi la récupération des composés volatils émis pendant la torréfaction a été écartée.

La deuxième solution envisagée est la supplémentation de la poudre de cacao en sucres réducteurs. Les résultats précédents sur la consommation des précurseurs ont montré que les sucres réducteurs étaient un facteur limitant des réactions de Maillard pendant la torréfaction.

Deux types de compléments ont été essayés :

- du mucilage de cacao (très riche en sucres) sous différentes formes :
extrait alcoolique, extrait aqueux, poudre lyophilisée,
- une solution de fructose.

Ces deux types de supplémentation conduisent à un enrichissement des aromagrammes des poudres de cacao torréfiées. Pour des raisons techniques, la supplémentation de la poudre n'est pas exploitable industriellement. Cependant, les résultats obtenus prouvent que la supplémentation du cacao en précurseurs est envisageable et réaliste pour augmenter la production d'arôme.

La supplémentation en précurseurs a été effectuée en deux temps.

Nous avons procédé, en premier lieu, à un apport exogène de sucres réducteurs au moyen d'une méthode d'infiltration sous vide classique adaptée au laboratoire pour les nibs.

Le stade suivant consiste à augmenter la teneur des nibs, en acides aminés sous forme libre, soit par apport endogène en utilisant les acides aminés sous forme protéique, soit par apport exogène (infiltration).

La torréfaction industrielle est effectuée sur fèves ou nibs, une opération de supplémentation ne peut être envisagée que sur ces derniers. Les nibs n'ont pas de coques, obstacle à l'infiltration, et possèdent une plus grande surface spécifique par rapport aux fèves.

2. Supplémentation des nibs en fructose et en glucose

2.1. Influence de la concentration de la solution et de la durée de trempage

Le fructose est utilisé pour déterminer l'influence des paramètres d'infiltration, à savoir la concentration de la solution et la durée du trempage. Nous nous fixons comme objectif de doubler la quantité initiale de fructose.

Après traitement des nibs de cacao, le fructose est dosé par CLHP afin d'évaluer l'efficacité de l'infiltration (Annexe XIII).

L'évolution de la teneur en fructose en fonction de la concentration est quasi linéaire (Figure 23). Il en est de même en fonction de la durée de trempage (Figure 24).

Ainsi, une concentration de 60 g/l pour une durée de trempage de 10 minutes permet d'obtenir l'effet recherché (doubler la quantité initiale), de même qu'une concentration de 30 g/l avec une durée de trempage de 20 minutes.

Cette technique d'infiltration est simple et efficace ; toutefois des réserves sur cette méthode sont à émettre.

La teneur en glucose pour les échantillons traités est plus faible que celle du témoin (environ 15%). Au cours du trempage, si du glucose est perdu par diffusion, il est à craindre que nous perdions d'autres précurseurs, notamment des acides aminés.

Un temps de trempage le plus court possible doit donc être préféré.

On pourrait même envisager des concentrations plus élevées en fabrication, jusqu'au sirop sous réserve de pouvoir recouvrir la surface totale des nibs (par exemple sirop sous forme de nébullisat), ce qui permet d'utiliser moins d'eau, en diminuant ou en évitant la diffusion.

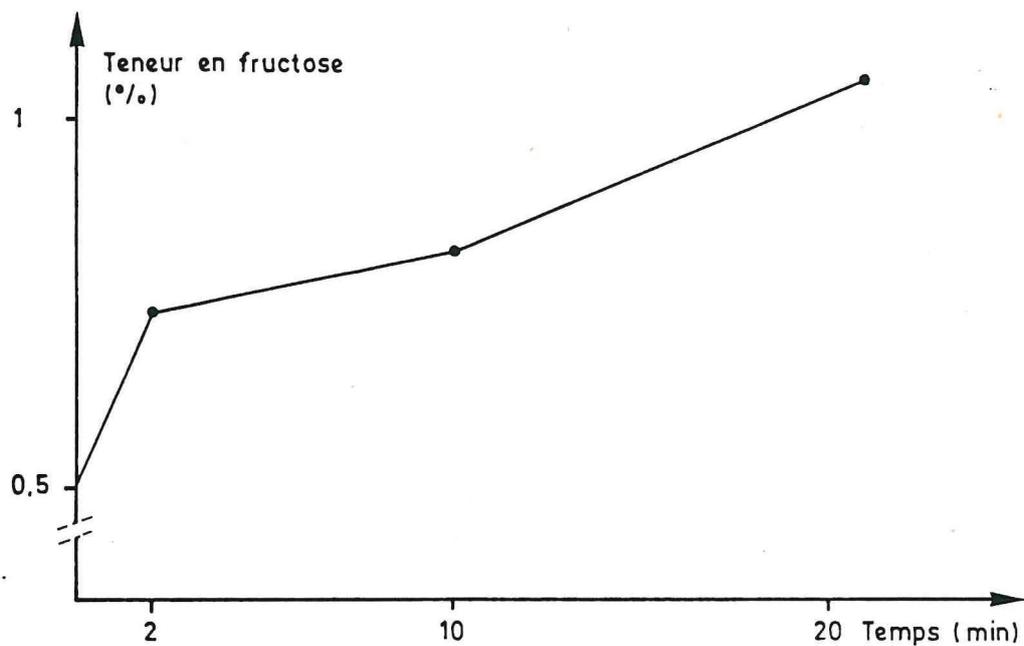


Figure 23 : Teneur en fructose des nibs en fonction du temps de trempage (solution de supplémentation à 30 g/l).

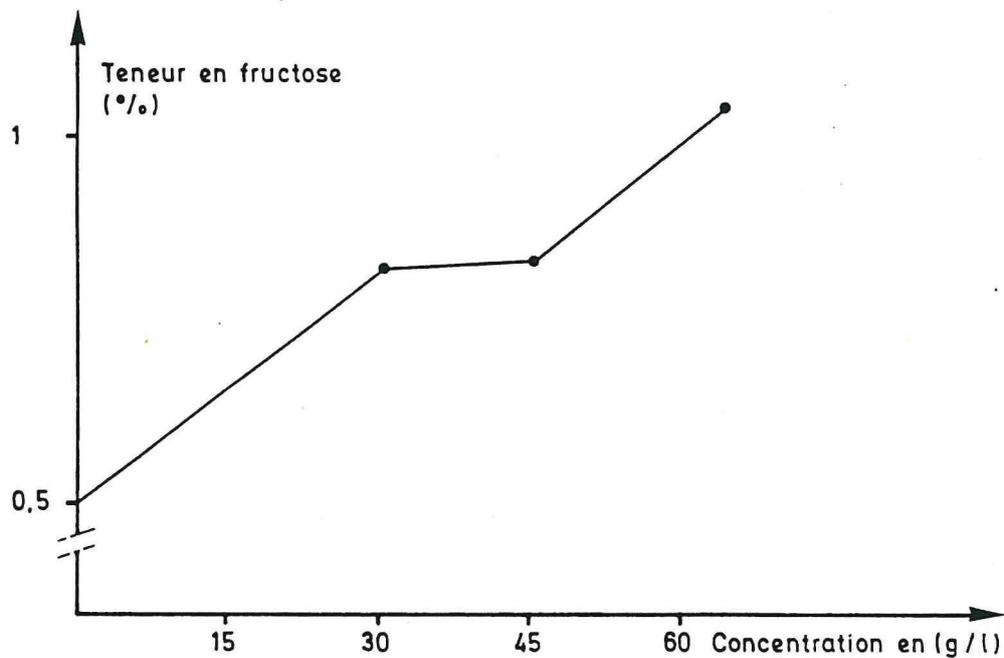


Figure 24 : Teneur en fructose des nibs en fonction de la concentration de la solution de la solution de supplémentation (trempage 10 minutes).

2.2. Influence de la supplémentation en fructose sur la consommation en précurseurs pendant la torréfaction

Après supplémentation en fructose, la quasi totalité des sucres réducteurs est consommée au cours de la torréfaction (Tableau 35). Cependant ce résultat ne permet pas d'établir si la répartition du fructose additionné est homogène dans les nibs.

Deux schémas peuvent être envisagés :

- le sucre est déposé en surface, ce qui correspond à un enrobage, dans ce cas, le fructose exogène conduirait préférentiellement à des réactions de caramélisation
- le fructose a bien diffusé dans les nibs, il participerait alors avec les acides aminés aux réactions de Maillard (condensation sucre - acide aminé).

Tableau 35 : Consommation du fructose et du glucose au cours de la torréfaction (140°C 25 minutes) du cacao supplémentation en fructose.

	témoin	30 g/l 2 min	45 g/l 2 min	30 g/l 10 min	45 g/l 10 min	30g/l 20 min	60 g/l 10 min
fructose	100 %	99 %	92 %	95 %	87 %	96 %	93 %
glucose	100 %	99 %	95 %	88 %	82 %	97 %	89 %

Pour vérifier la participation du fructose infiltré à des réactions de Maillard, nous avons dosé les acides aminés après torréfaction (140°C pendant 25 minutes).

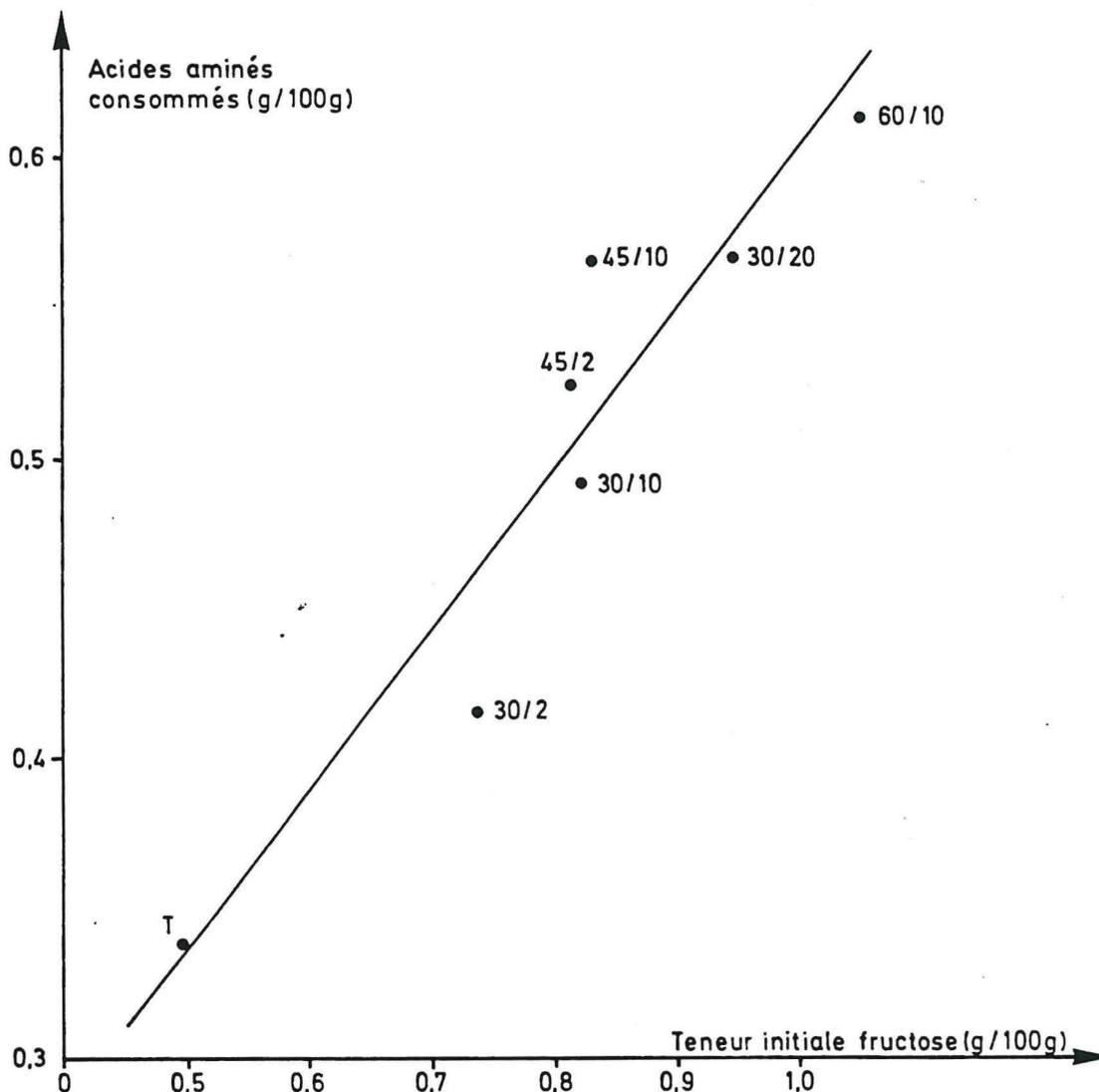


Figure 25 : Consommation des acides aminés sous forme libre en fonction de la teneur initiale en fructose des échantillons supplémentés.

Les résultats montrent que la teneur résiduelle en acides aminés libres diminue avec l'augmentation de la quantité de fructose infiltré dans les nibs (Figure 25, Annexe XIV). Même si des acides aminés sont perdus par diffusion lors du traitement, l'addition du fructose augmente la destruction des acides aminés pendant la torréfaction.

Nous pouvons alors admettre que le fructose infiltré est bien réparti, tout au moins dans la partie périphérique et qu'il est dégradé dans des réactions de Maillard lors de la torréfaction.

2.3. Influence de la supplémentation en fructose sur la formation des alkyl pyrazines

2.3.1. Dosage des alkyl pyrazines

Le dosage des pyrazines permet de quantifier l'influence de cette supplémentation en fructose sur le développement de l'arôme (tableau 36).

La quantité totale de pyrazines évolue peu en fonction de la teneur en fructose après supplémentation (25% d'écart entre les valeurs extrêmes). Par contre la répartition de ces pyrazines est modifiée : les teneurs en méthyl pyrazine et diméthyl pyrazines augmentent, alors que celles de la triméthyl et de de la tétraméthyl pyrazine varient peu ou diminuent légèrement.

Tableau 36 : Teneur en méthyl pyrazines (mg/kg) en fonction de la teneur en fructose (%) des échantillons supplémentés après torréfaction à 140 °C pendant 25 minutes.

Teneur en fructose	0,495 %	0,737%	0,814 %	0,822 %	0,832 %	0,948 %	1,053 %
Méthyl pyrazine	1,2	1,8	1,9	1,8	2,9	3,4	2,4
Diméthyl-2,5 pyrazine	2,4	3,4	3,6	3,5	4,9	5,3	4,0
Diméthyl-2,6 pyrazine	0,6	1,0	1,1	1,1	1,5	1,7	1,3
Diméthyl-2,3 pyrazine	0,5	0,5	0,1	0,5	0,8	0,7	0,6
Total diméthyl pyrazines	3,6	5,0	5,3	5,0	7,2	7,7	5,9
Triméthyl pyrazine	3,8	3,4	3,2	3,1	4,2	3,7	2,9
Tétraméthyl pyrazine	10,7	10,6	10,4	10,0	11,1	9,2	8,9
Total pyrazines	19,2	20,8	20,8	19,9	25,5	24,0	20,1

Ce qui se traduit par l'augmentation des rapports diméthyl-2,5 / tétraméthyl pyrazine et diméthyl-2,5 / triméthyl pyrazine (figure 26).

Des variations de ces rapports peuvent s'interpréter par la variation de la teneur en pré-curseurs. En effet KOEHLER et ODELL (1970) ont montré d'une part que le chauffage d'acides différents et de glucose donne des mélanges d'alkyl pyrazines différents, et d'autre part que le chauffage d'asparagine et de sucres différents conduit à des rapports diméthyl pyrazine / pyrazine différents. Les teneurs en méthyl et diméthyl pyrazines décroissent quand le rapport asparagine / glucose passe de 1 à 0,3.

De même nous avons préalablement constaté que la torréfaction de systèmes modèles composés de fructose et d'acides aminés conduisait surtout à la formation de diméthyl pyrazines, la supplémentation en fructose du cacao, selon le même principe, conduirait à l'augmentation de la teneur de ces composés.

Selon le modèle de ZIEGLER (1982a), le témoin correspondrait à une torréfaction normale, alors que les échantillons supplémentés en fructose correspondraient à une torréfaction foncée. La supplémentation aurait donc la même conséquence sur la valeur des rapports de pyrazines qu'une augmentation de l'intensité de la torréfaction, or tous les échantillons sont torréfiés dans les mêmes conditions.

Ce modèle doit donc être reconsidéré en prenant en compte la nature et la concentration des précurseurs d'arôme.

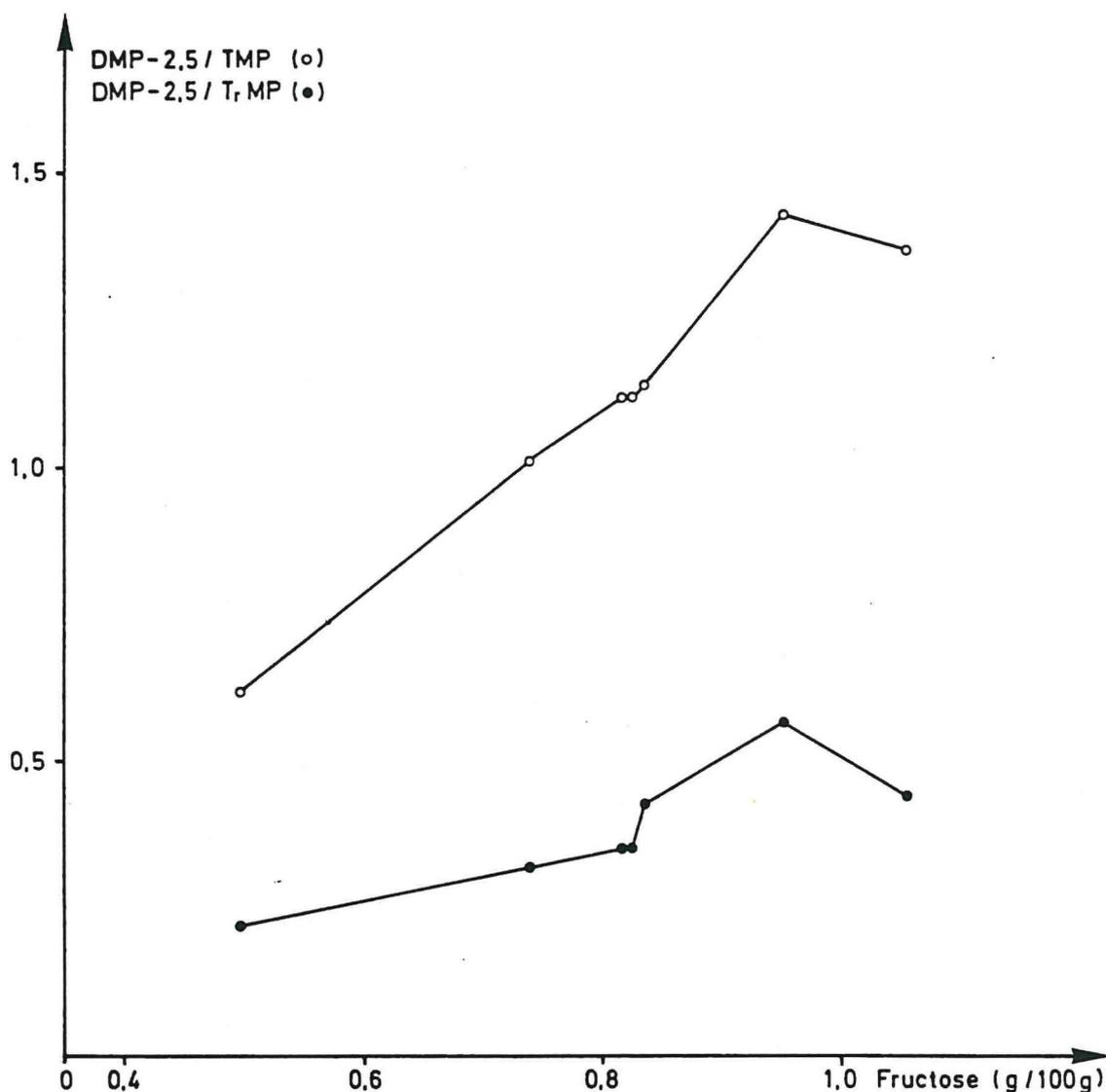


Figure 26 : Evolution des rapports DMP-2,5/TMP et DMP-2,5/TrMP en fonction de la teneur en fructose dans les nibs de cacao supplémentés (torréfaction 140°C - 25 min).

2.3.2. Evaluation organoleptique des échantillons supplémentés en fructose

Les échantillons de cacao supplémentés en fructose sont dégustés sous forme d'infusion.

Deux séries d'échantillons sont présentées au jury, lequel classe les échantillons par ordre décroissant d'intensité du caractère aromatique, et leur attribue une note sur 10.

Série n° 1 : témoin ; 30 g/l 2 min ; 30 g/l 10 min ; 30 g/l 20 min.

Série n° 2 : témoin ; 30 g/l 10 min ; 45 g/l 10 min ; 60 g/l 10 min.

Les résultats de ces dégustations sont analysés par le test de Newman et Keuls. Il n'y a pas de différence significative pour la première série.

En revanche, pour la deuxième série, on distingue 2 classes d'intensité décroissante (significatif au seuil de 0,5%).

- Classement par rang : ($F_{36}^3 = 4,00$)

60 g/l 10 min ; 45 g/l 10 min ; témoin ; 30 g/l 10 min

- Classement par note d'arôme : ($F_{36}^3 = 3,96$)

60 g/l 10 min ; 45 g/l ; témoin ; 30 g/l 10 min

L'échantillon supplémenté (60 g/l témoin) possédant l'arôme le plus développé, a la teneur en fructose la plus élevée après supplémentation.

L'établissement d'une relation entre les teneurs en pyrazines, la quantité de fructose ajouté et les qualités organoleptiques du cacao supplémenté paraît difficile.

2.3. Influence de la supplémentation en sucres réducteurs sur la formation des aldéhydes

Nous avons constaté précédemment que le glucose pouvait être perdu par diffusion en cours de trempage durant la supplémentation en fructose.

Nous avons effectué plusieurs types de supplémentation, avec une durée de trempage de 10 minutes, avec les solutions suivantes :

- glucose (15 g/l) échantillon G,
- fructose (60 g/l) échantillon F,
- mélange fructose-glucose (60-15 g/l) échantillon F-G.

Ces proportions respectent les teneurs initiales de ces sucres dans notre cacao. Ces conditions permettent approximativement de doubler les quantités initiales en sucres.

Le dosage des pyrazines s'étant révélé insuffisant pour établir une relation satisfaisante entre ces composés et les propriétés organoleptiques d'un cacao supplémenté, nous avons alors cherché à établir une relation entre la teneur en aldéhydes et les caractéristiques organoleptiques. Ces aldéhydes sont obtenus par la désamination oxydative de certains acides aminés, et nous pouvons concevoir a priori que leur concentration soit reliée à la teneur en sucres réducteurs.

Notre choix s'est porté sur les principaux aldéhydes identifiés du cacao, à savoir le benzaldéhyde, l'isobutyraldéhyde, l'isovaléraldéhyde, le phénylacétaldéhyde.

Le dosage des aldéhydes et l'évaluation organoleptique des échantillons traités ont été effectués sur deux séries d'échantillons.

2.3.1. Première série

La teneur en aldéhydes totaux augmente avec la quantité de sucres réducteurs infiltrée (Figure 27). La teneur en aldéhydes totaux du témoin est inférieure à celle des échantillons supplémentés (Figure 28, Annexe XV).

Les échantillons de cacao supplémentés sont dégustés sous forme d'infusion. Le classement des échantillons par ordre décroissant d'intensité aromatique, soumis au test de Newman et Keuls permet d'établir une différence significative au seuil de 99,9%, entre ces trois classes d'échantillons :

$$\text{classement caractère aromatique : } F_{36}^3 = 19,669$$

échantillon FG, échantillon F

échantillon G

témoin

Les échantillons supplémentés en fructose ou avec un mélange fructose-glucose sont jugés plus aromatiques par les dégustateurs.

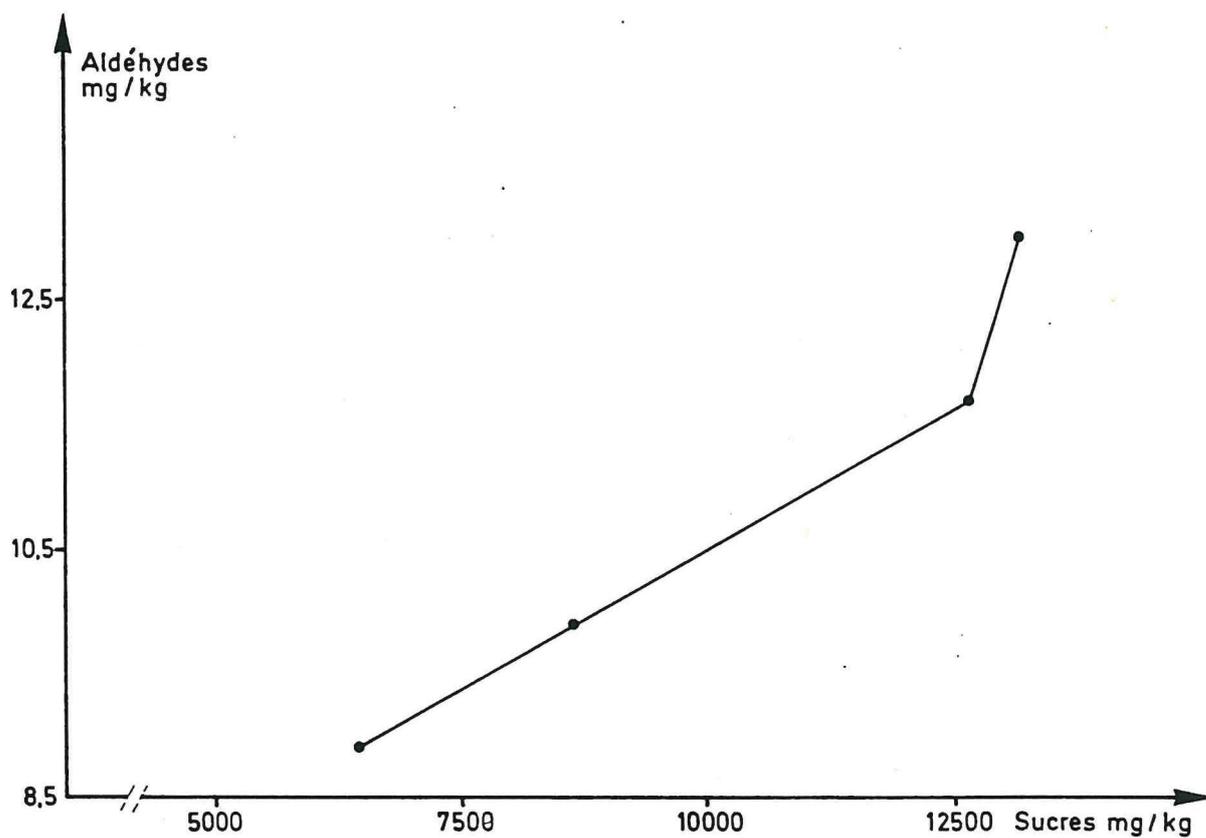


Figure 27 : Teneur en aldéhydes totaux en fonction de la quantité de sucres réducteurs (après torréfaction à 140°C pendant 25 minutes).

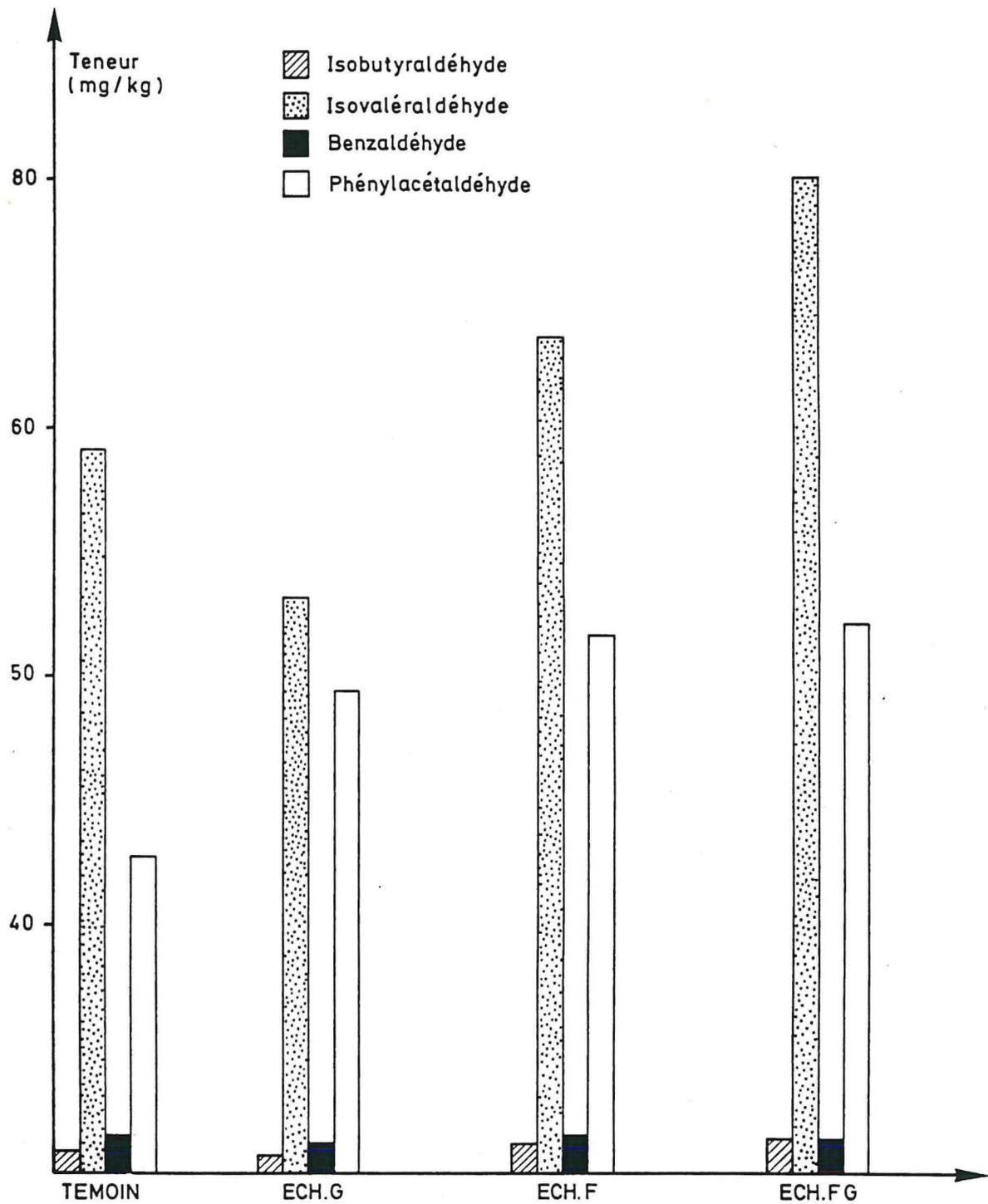


Figure 28 : Teneur en aldéhydes des échantillons supplémentés en sucres réducteurs (fructose et glucose) après torréfaction à 140°C pendant 25 minutes.

2.3.2. Deuxième série

Afin de confirmer les résultats précédents, un échantillon du même lot de cacao a été supplémenté 6 mois plus tard, en fructose glucose (même concentration) ; deux déterminations ont été effectuées pour la teneur en aldéhydes de l'échantillon traité.

Pour cette série, le dosage du benzaldéhyde a été abandonné car la teneur de cet aldéhyde varie peu en fonction de la supplémentation.

Par contre, le dosage a été élargi à deux aldéhydes à point d'ébullition plus élevé : le phényl-2 butène-2 al et le méthyl-5 phényl-2 hexène-2 al, provenant respectivement de l'aldococondensation de l'acétaldéhyde et de l'isovaléraldéhyde avec le phénylacétaldéhyde.

Tableau 37 : Teneur en aldéhydes (mg/kg) en fonction de la concentration (mg/kg) et de la nature des sucres réducteurs infiltrés (torréfaction 140°C 25 minutes) sucres dosé par CLHP, témoin = cacao non traité torréfié.

Echantillon	Témoin	Supplémenté fructose-glucose (FG)	
Glucose	1 400	3 600	
Fructose	4 360	11 600	
Total sucres réducteurs	5 760	15 200	
Isobutyraldéhyde	1,6	3,4	3,7
Isovaléraldéhyde	36,6	52,7	60,2
Phénylacétaldéhyde	11,0	16,9	17,2
Phényl-2 butène-2 al	0,8	0,8	1,5
Méthyl-5 phényl-2 hexène-2 al	1,5	2,8	2
Total aldéhydes	51,5	76,6	84,8

Cette expérimentation, comme la précédente, montre que la teneur de l'échantillon supplémenté est supérieure à celle du témoin. Les teneurs obtenues au cours de cette série sont cependant inférieures à celles obtenues précédemment.

En revanche ces dosages illustrent bien l'évolution des aldéhydes qui est du même ordre de grandeur pour les deux séries entre le témoin et l'échantillon FG (supplémenté en fructose-glucose).

Pour cette série le témoin et l'échantillon supplémenté sont dégustés en test triangulaire. Une différence significative, au seuil de 99,96%, est établie entre les deux échantillons, au niveau du caractère aromatique.

Le cacao supplémenté en sucres réducteurs est jugé plus aromatique que le témoin non traité. Il semble que l'on puisse corréler l'intensité de l'arôme cacao à une augmentation de la teneur en aldéhydes.

3. Augmentation de la teneur en acides aminés des nibs de cacao

Nous avons essayé d'augmenter la teneur d'un cacao fermenté en acides aminés sous forme libre pour accroître la formation de composés aromatiques, notamment les produits de la dégradation de Strecker. Pour cela deux approches distinctes ont été réalisées :

- par voie endogène en utilisant comme source d'acides aminés les protéines de cacao en exprimant une éventuelle activité protéolytique résiduelle de la fève de cacao fermenté ou en infiltrant des protéases dans les nibs de cacao ;
- par apport exogène d'acides aminés sous forme libre.

3.1. Utilisation de l'activité protéolytique résiduelle du cacao

Une activité protéolytique est détectée au bout de 12 heures d'incubation sur un extrait protéique de cacao. Il est impossible de quantifier cette activité ne connaissant pas la nature des protéases mises en jeu. Toutefois, à titre indicatif, ce test permet de détecter une activité protéolytique équivalente à 10^{-4} unité de trypsine.

Nous avons essayé d'utiliser cette activité enzymatique dans les nibs en les réhydratant. Nos essais sont récapitulés dans le tableau 38.

Tableau 38 : Conditions de préparation des échantillons de cacao pour les essais de protéolyse.

Echantillon	Temps de trempage (minutes)	Temps d'incubation (heures)
T7H	10	0
7H	10	7
T8H	10	0
8H	10	8
T24H	10	0
T24H	10	24
T24/40	40	0
24/40	40	24

T = témoin

Tableau 39 : Teneur (g/100g) en acides aminés sous forme libre des échantillons, après les essais de protéolyse en utilisant l'activité résiduelle du cacao.

	TH7	7H	T8H	8H	T24H	24H	T24/40	24/40
Ac aspartique	0,019	0,020	0,020	0,020	0,019	0,019	0,017	0,020
Ac glutamique	0,052	0,051	0,058	0,060	0,043	0,051	0,048	0,052
Asparagine	0,037	0,036	0,035	0,038	0,029	0,032	0,033	0,034
Sérine	0,023	0,023	0,023	0,027	0,027	0,024	0,024	0,024
Glutamine	0,023	0,023	0,20	0,022	0,016	0,018	0,020	0,019
Histidine	0,011	0,012	0,011	0,013	0,011	0,012	0,013	0,013
Glycine	0,009	0,010	0,010	0,010	0,010	0,011	0,010	0,011
Thréonine	0,018	0,018	0,017	0,018	0,014	0,016	0,017	0,017
Arginine	0,049	0,051	0,046	0,050	0,038	0,043	0,047	0,047
Alanine	0,047	0,046	0,049	0,054	0,043	0,043	0,043	0,043
γ-butyrolactone	0,033	0,033	0,035	0,038	0,030	0,030	0,031	0,033
Tyrosine	0,042	0,041	0,043	0,046	0,034	0,039	0,041	0,042
Méthionine	0,008	0,008	0,007	0,008	0,006	0,007	0,006	0,007
Valine	0,039	0,041	0,040	0,044	0,035	0,037	0,037	0,038
Phénylalanine	0,070	0,073	0,070	0,077	0,062	0,067	0,068	0,067
Isoleucine	0,025	0,027	0,025	0,028	0,024	0,026	0,024	0,025
Leucine	0,078	0,084	0,082	0,088	0,073	0,079	0,078	0,077
Lysine	0,027	0,026	0,025	0,024	0,022	0,025	0,026	0,026
Total	0,610	0,623	0,616	0,665	0,536	0,555	0,583	0,595

Les échantillons notés T sont les témoins pour chaque condition d'incubation.

Après incubation, le dosage des acides aminés a été effectué sur les échantillons traités et leurs témoins respectifs, pour mesurer une variation de la teneur en acides aminés après traitement. Au niveau de l'ensemble des acides aminés, les écarts de teneur enregistrés par rapport au témoin varient entre 2 et 7%, autant dire que ces variations ne sont pas significatives (Tableau 39).

Si une activité protéolytique résiduelle a été mise en évidence, les conditions d'incubation ne conduisent pas à une modification significative des teneurs en acides aminés sous forme libre : soit ces conditions ne permettent pas l'expression de cette activité, soit elles conduisent à l'inhibition de l'activité résiduelle.

3.2. Utilisation de protéases exogènes

3.2.1. Protéolyse d'un extrait protéique de cacao

Quatre endoprotéases différentes ont été testées sur un extrait protéique de cacao, dans la perspective de retenir les plus efficaces et d'hydrolyser les protéines du cacao pour générer des acides aminés sous forme libre.

Pour juger de l'effet de chaque enzyme sur les protéines de cacao, il faut comparer les teneurs en acides aminés sous forme libre (Tableaux 41 et 42) en tenant compte de la teneur initiale (témoin T) et de l'apport d'acides aminés par la protéase (blanc pour chaque enzyme) (exemple PA2/TPA2+T.)

Tableau 40 : Augmentation de la teneur en acides aminés sous forme libre (%) après incubation de la fraction protéique avec des protéases.

incubation	Papaïne	Bromélaïne	Ficine	Pronase
2 heures	3,0 %	221,3 %	5,2 %	95,7 %
6 heures	0,6 %	185 %	6,1 %	71,8 %

La teneur en acides aminés pour les témoins de la papaïne, de la ficine, de la pronase est importante : ces enzymes se dégraderaient par un phénomène d'autolyse.

Ces résultats montrent que :

- la papaïne et la ficine n'ont aucun effet protéolytique sur les protéines du cacao ;
- en revanche, pour la bromélaïne et la pronase, il y a une augmentation de la teneur en acides aminés sous forme libre dans les extraits correspondants (Tableau 40).

Dans le meilleur des cas, pour la pronase (incubation 6 heures PR6), cet accroissement est de 2050 mg/100 ml. Par rapport aux 10 g de cacao mis en œuvre, cela représente une augmentation des acides aminés du cacao de 28,7%, ce qui est important et correspond à l'effet recherché.

Tableau 41 : Teneur en acides aminés sous forme libre ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) des extraits protéiques du cacao après traitement avec des protéases (2 heures d'incubation).

$\mu\text{g} / 100\text{ ml}$	T	PA2	TPA2	B2	TB2	F2	TF2	PR2	TPR2
Ac aspartique	43,2	38,6	9,2	23,6	tr	93,0	93,0	47,8	43,2
Ac glutamique	50,8	110,0	28,1	69,0	tr	135,8	74,3	77,4	23,5
Sérine	66,1	77,2	41,1	46,1	tr	228,8	190,0	92,8	47,2
Glutamine	17,7	16,9	19,2	36,1	tr	144,5	132,2	193,6	25,4
Histidine	68,6	72,3	13,9	21,3	tr	69,5	38,0	95,5	25,0
Glycine	59,4	132,0	77,7	49,1	tr	335,6	283,2	104,4	43,1
Thréonine	29,0	25,8	7,7	12,9	tr	119,9	108,3	78,0	59,9
Arginine	ND	74,0	87,4	195,4	tr	204,6	178,9	964,6	76,1
Alanine	31,2	51,9	27,9	25,9	tr	181,6	140,3	84,6	52,9
γ -butyrolactone	14,2	20,4	ND	15,3	tr	23,2	ND	23,2	ND
Tyrosine	67,3	116,6	40,7	33,2	tr	286,2	236,0	436,9	204,7
Méthionine	ND	28,1	ND	ND	tr	173,1	146,9	119,7	ND
Valine	36,5	27,1	13,0	ND	tr	81,9	74,8	103,1	125,5
Phénylalanine	25,1	166,4	33,9	1125,5	tr	181,8	94,8	408,1	178,0
Isoleucine	28,9	24,2	25,5	114,2	tr	78,0	84,0	74,6	82,7
Leucine	36,6	141,5	76,4	314,0	tr	388,8	304,1	433,5	160,4
Lysine	94,2	94,2	50,6	64,4	tr	308,0	170,1	395,4	69,0
Asparagine	34,0	100,0	24,9	109,9	tr	198,2	131,5	123,6	52,3
Total	702,7	1317,9	577,1	2256,2	tr	3232,0	2480,3	3856,6	1268,8

T = Extrait protéique non traité B = Bromélaïne PR = Pronase
PA = Papaïne TB = Témoin bromélaïne TPR = Témoin pronase
TPA = Témoin papaïne F = Ficine TF = Témoin ficine

Tableau 42 : Teneur en acides aminés sous forme libre ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) des extraits protéiques du cacao après traitement avec des protéases (6 heures d'incubation).

$\mu\text{g} / 100\text{ ml}$	PA6	TPA6	B6	TB6	F6	TF6	PR6	TPR6
Ac aspartique	40,0	17,7	37,3	tr	81,9	60,3	62,9	37,3
Ac glutamique	119,8	58,4	77,4	tr	129,7	68,3	106,2	22,0
Sérine	87,8	42,2	55,0	tr	201,1	169,4	117,1	53,3
Glutamine	16,9	25,4	40,00	tr	131,4	129,9	371,1	30,0
Histidine	63,0	13,0	26,9	tr	63,0	ND	111,2	72,9
Glycine	160,5	85,6	85,6	tr	303,7	266,3	115,1	51,9
Thréonine	36,7	11,6	20,0	tr	104,4	93,5	96,0	94,5
Arginine	95,6	42,2	134,7	tr	191,3	216,0	1343,0	109,0
Alanine	50,9	38,9	31,2	tr	155,2	139,4	87,5	116,9
γ -butyrolactone	15,9	ND	9,6	tr	22,7	ND	20,4	ND
Tyrosine	122,2	39,8	41,7	tr	289,0	232,2	498,5	361,1
Méthionine	19,0	12,7	ND	tr	78,9	134,2	159,5	123,0
Valine	33,6	18,3	ND	tr	79,6	41,8	157,3	203,0
Phénylalanine	94,8	30,0	643,2	tr	463,3	81,2	420,7	157
Isoleucine	30,2	15,5	90,7	tr	63,2	69,9	70,6	135,7
Leucine	136,9	91,5	358,6	tr	362,4	273,9	505,4	279,0
Lysine	142,5	66,7	80,5	tr	223,0	149,4	567,8	193,1
Asparagine	96,1	42,5	269,5	tr	193,6	130,2	117,1	112,5
Total	1 362,7	651,9	2001,8	tr	3137,2	2255,6	4905,8	2153,0

3.2.2. Protéolyse sur les nibs de cacao

Nous avons essayé d'infiltrer dans les nibs les deux protéases qui ont donné un résultat sur l'extrait protéique de cacao : la bromélaïne et la pronase.

Le dosage des acides aminés sous forme libre ne met pas en évidence d'effet significatif du traitement enzymatique des nibs de cacao. On ne constate aucune différence globale ou individuelle pour les acides aminés (Tableau 43).

Ces résultats s'interprètent soit par l'absence d'infiltration, soit par la perte d'activité des enzymes en cours d'infiltration, liée à la présence des polyphénols du cacao (réaction de tannage). De plus la quantité d'enzymes utilisée est peut-être trop faible (100 mg d'enzyme pour 10 g de protéines, soit un rapport enzyme/substrat de 1%).

De plus, la teneur en eau relativement faible de l'échantillon infiltré (15 à 20%) ne correspond vraisemblablement pas à des conditions favorables de l'expression de l'activité protéolytique.

L'effet du traitement se traduit par une perte en acides aminés sous forme libre par diffusion.

Sous réserve d'essais supplémentaires, cette solution est momentanément à écarter.

Tableau 43 : Teneur en acides aminés sous forme libre (g/100g) des échantillons de cacao traités par les protéases.

g/100g	TB	B	TPR	PR	T
Ac aspartique	0,018	0,019	0,017	0,017	0,025
Ac glutamique	0,050	0,054	0,049	0,048	0,068
Asparagine	0,033	0,031	0,028	0,028	0,052
Sérine	0,022	0,025	0,020	0,022	0,030
Glutamine	0,020	0,030	0,020	0,020	0,023
Histidine	0,015	0,015	0,014	0,013	0,010
Glycine	0,008	0,008	0,007	0,007	0,023
Thréonine	0,016	0,017	0,015	0,015	0,023
Arginine	0,045	0,048	0,042	0,039	0,065
Alanine	0,045	0,048	0,046	0,045	0,057
γ-butyrolact.	0,030	0,030	0,031	0,030	0,036
Tyrosine	0,043	0,043	0,039	0,040	0,056
Valine	0,041	0,043	0,038	0,040	0,056
Phénylalanine	0,071	0,073	0,065	0,064	0,089
Isoleucine	0,026	0,029	0,024	0,025	0,036
Leucine	0,085	0,085	0,079	0,076	0,108
Lysine	0,032	0,030	0,027	0,031	0,027
Total	0,600	0,628	0,561	0,560	0,766
VAL+PHE+LEU	0,197	0,201	0,182	0,180	0,247

TPR = Témoin pronase T = Témoin cacao non traité PR = Pronase
 TB = Témoin Bromélaïne B = Bromélaïne

4. Supplémentation simultanée en sucres réducteurs et en acides aminés

Les tentatives d'apport d'acides aminés par voie endogène s'étant révélées infructueuses, nous avons alors directement supplémenté les nibs de cacao en acides aminés, en employant la méthode d'infiltration utilisée précédemment pour les sucres.

Nous nous sommes limités à la valine, la leucine et la phénylalanine, composés à l'origine de la formation des aldéhydes de Strecker du cacao torréfié, en respectant leur proportion initiale dans le cacao.

La technique de supplémentation des nibs est celle employée habituellement. Cette opération est effectuée avec une durée de trempage de 10 minutes. Les nibs sont infiltrés avec les 3 solutions suivantes :

- leucine et phénylalanine (4 g/l), valine (3,5 g/l) échantillon A
- fructose (60 g/l), glucose (15 g/l) échantillon S
- mélange leucine, valine, phénylalanine, fructose et glucose dans les concentrations précédentes (échantillon AS).

4.1. Dosage des précurseurs après infiltration

Les sucres et les acides aminés des échantillons supplémentés sont dosés par CLHP (Tableaux 44 et 45).

La supplémentation en acides aminés permet de doubler approximativement les teneurs en valine, leucine et phénylalanine (échantillons A et AS), mais conduit à une perte par diffusion des autres acides aminés. La supplémentation exclusive en acides aminés conduit également à une perte en sucres par diffusion (échantillon A).

Tableau 44 : Teneur en sucres réducteurs (g/100g) des échantillons de cacao supplémentés (dosage CLHP).

	témoin	échantillon A	échantillon S	échantillon AS
Glucose	0,152	0,028	0,352	0,275
Fructose	0,514	0,415	1,252	1,115
Total	0,666	0,443	1,604	1,390

Tableau 45 : Teneur en acides aminés sous forme libre (g/100 g) des échantillons supplémentés en sucres et en acides aminés.

	témoin	ech. A	ech.S	ech.AS
Ac aspartique	0,025	0,018	0,015	0,018
Ac glutamique	0,068	0,047	0,046	0,051
Asparagine	0,052	0,029	0,027	0,029
Sérine	0,030	0,020	0,019	0,023
Glutamine	0,023	0,018	0,018	0,024
Histidine	0,013	0,013	0,011	0,013
Glycine	0,023	0,007	0,007	0,008
Thréonine	0,023	0,015	0,014	0,017
Arginine	0,065	0,042	0,038	0,045
Alanine	0,057	0,044	0,039	0,046
γ -butyrolact.	0,036	0,028	0,026	0,02
Tyrosine	0,056	0,039	0,035	0,044
<u>Valine</u>	0,040	0,086	0,036	0,099
<u>Phénylalanine</u>	0,065	0,119	0,060	0,129
Isoleucine	0,036	0,025	0,023	0,026
<u>Leucine</u>	0,078	0,126	0,072	0,146
Lysine	0,028	0,026	0,028	0,029
Total	0,718	0,702	0,514	0,776
VAL+PHE+LEU	0,183	0,331	0,168	0,374

témoin = cacao non traité

4.2. Influence de la supplémentation sur la teneur en aldéhydes

Une teneur plus élevée en valine, leucine et phénylalanine, sous réserve de réagir avec la quantité nécessaire de sucres, conduirait principalement à une augmentation de la quantité d'isobutyraldéhyde, d'isovaléraldéhyde et de phénylacétaldéhyde).

Sachant qu'une torréfaction classique conduit à la consommation quasi totale de ces sucres, mais seulement partielle des acides aminés, la seule supplémentation en acides aminés (T/A) ne modifie pas, ou très peu, la teneur finale en aldéhydes. La formation d'aldéhydes nécessite l'intervention de sucres réducteurs. L'apport de sucres (S/T) permet de consommer une fraction supplémentaire des acides aminés de la fève, la teneur en aldéhydes augmente d'environ 60%.

La double supplémentation (AS/T) conduit à une forte augmentation d'environ 130% de ces aldéhydes et des produits de condensation correspondants (Tableau 46).

Il semble qu'il y ait une relation entre la teneur initiale en précurseurs (valine, leucine, phénylalanine, fructose et glucose) et la formation d'aldéhydes pendant la torréfaction : l'accroissement de cette teneur initiale en précurseurs se traduit par une augmentation de la quantité d'aldéhydes formés.

Tableau 46 : Teneur en aldéhydes (mg / kg) des échantillons supplémentés en sucres et en acides aminés.

	Témoin	A	S	AS	$\frac{AS-T}{T}$ (%)
Isobutyraldéhyde	1,6	2,2	3,4 3,7 <u>3,6</u>	9,8 7,9 <u>8,9</u>	450 %
Isovaléraldéhyde	36,6	34,2	52,7 60,2 <u>56,5</u>	94,0 74,7 <u>84,4</u>	130 %
Phénylacétaldéhyde	11,0	13,6	- 17,6	19,8 14,0 <u>16,9</u>	53 %
Phényl-2 butène-2 al	0,8	0,8	0,8 1,5 <u>1,2</u>	2,2 1,4 <u>1,8</u>	99 %
Méthyl-5 phényl-2 hexène-2 al	1,5	2,0	2,8 2,2 <u>2,5</u>	8,1 4,3 <u>6,2</u>	326 %
Total	51,5	52,8	81,4	118,2	129 %

4.3. Evaluation organoleptique des échantillons supplémentés.

Les échantillons T, AS, S sont dégustés en test triangulaire sous forme d'infusion (Tableau 47).

L'échantillon AS est torréfié à deux températures différentes :

- 140°C 25 minutes (AS1)
- 160°C 15 minutes (AS2).

En effet il est possible que les conditions de torréfaction des nibs, considérées comme optimales en ce qui concerne l'appréciation organoleptique des infusions, ne le soient plus dans le cas de nibs supplémentés. Les conditions 160°C, 15 minutes, jugées satisfaisantes dans le cas des nibs, sont susceptibles de permettre une dégradation plus importante des précurseurs.

Ces échantillons sont préparés à deux concentrations différentes pour l'infusion de cacao :

- la première identique au témoin : l'échantillon traité doit être différent du témoin, au niveau aromatique ;
- la deuxième, avec 20% en moins de poudre de cacao (échantillons AS1-80 et AS2-80) que le témoin : l'échantillon traité doit être supérieur ou égal au témoin, au niveau aromatique.

Tableau 47 : Résultats des dégustations des échantillons supplémentés en sucres et en acides aminés.

Nature du test	différence significative	différence caractère aromatique	le plus aromatique
T/AS1	99,66 %	NS (91%)	-
T/AS2	99,90 %	99,17 %	AS2
T/AS1 - 80	NS	-	-
T/AS2 - 80	NS	-	-
S/AS1	99,66 %	99,74 %	S
T/S	99,96 %	99,96 %	S

La dégustation différencie le cacao doublement supplémenté (AS1) du témoin, cependant cette différence ne se retrouve pas sur le plan aromatique. Si la supplémentation conduit à l'augmentation de la quantité des composés aromatiques, en particulier les aldéhydes, les caractéristiques de ce cacao traité font que le jury ne dégage pas de préférence (déséquilibre de l'arôme).

En revanche, pour des conditions de torréfaction plus intense (160°C 15 minutes) l'échantillon doublement supplémenté AS2 présente un arôme cacao plus développé que le témoin.

Les échantillons AS1-80 et AS2-80 et le témoin sont considérés comme identiques. Cela signifie que les dégustateurs ne font pas de différence entre deux boissons dont l'une contient 20% de cacao en moins.

L'échantillon S (supplémenté uniquement en sucres) est jugé plus aromatique que l'échantillon AS1 (doublement supplémenté) et le témoin.

5. Conclusion

Après une série de travaux préliminaires consacrés aux différentes possibilités pour augmenter la formation de l'arôme cacao, l'augmentation de la teneur en précurseurs d'arôme dans le cacao (sucres réducteurs et acides aminés sous forme libre) nous a semblé être une solution réaliste et techniquement envisageable.

L'augmentation de la teneur en acides aminés, sous forme libre, a été envisagée sous deux aspects : l'utilisation de l'activité protéolytique résiduelle du cacao, ou l'infiltration de protéases exogènes. Les quelques essais de protéolyse effectués se sont révélés infructueux.

Une méthode d'infiltration sous vide a été développée et permet d'augmenter de façon efficace la quantité de fructose, de glucose et de certains acides aminés.

Dans le cas d'une supplémentation exclusive en fructose, une modification de la proportion des pyrazines est observée, pendant la torréfaction, avec une augmentation sensible des diméthyl pyrazines.

L'accroissement de la concentration dans les nibs en fructose et en glucose, ou simultanée en acides aminés et en sucres réducteurs, permet d'augmenter la formation des aldéhydes pendant la torréfaction.

Enfin, sur le plan organoleptique, la supplémentation exclusive en fructose-glucose, ou simultanée avec ces deux sucres, la valine, la leucine et la phénylalanine, conduit à l'obtention d'un arôme cacao plus développé.

Ainsi, avec une supplémentation simultanée en sucres réducteurs et en acides aminés, nous obtenons la même perception aromatique des échantillons de cacao traités, avec une économie de 20% de matière première, ce qui était l'objectif fixé.

CONCLUSION GENERALE et PERSPECTIVES

CONCLUSION GENERALE

Les résultats présentés dans le cadre de cette étude apportent une meilleure connaissance de l'évolution des précurseurs d'arôme, des méthyl pyrazines et des aldéhydes pendant la torréfaction, et propose une méthode pour augmenter la formation de l'arôme cacao.

L'optimisation de la formation d'arôme nécessite la maîtrise des paramètres de torréfaction pour exploiter la totalité du potentiel aromatique du cacao, présent sous forme de précurseurs, sucres réducteurs et acides aminés sous forme libre. Une consommation accrue de ces précurseurs lors de la torréfaction, dans certaines limites, permet d'atteindre cet objectif. En effet, nous avons montré que les sucres réducteurs représentent un facteur limitant des réactions de Maillard internes aux nibs de cacao. La poursuite de la dégradation des acides aminés sous forme libre, quand les sucres réducteurs sont totalement consommés, conduit au niveau organoleptique à des effets indésirables (goût de brûlé, d'arachide). Le schéma idéal serait d'interrompre la torréfaction au moment où il n'y a plus de sucres réducteurs.

Les premiers résultats concernant la dégradation de l'épicatéchol et de ses oligomères au cours de la torréfaction tendent à prouver l'implication de ces composés dans les réactions chimiques conduisant à la formation des constituants de l'arôme cacao. Cependant, la présence de composés phénoliques de cacao non fermenté, dans des systèmes modèles sucres-acides aminés nuit à la formation des composés aromatiques. Le rôle de ces composés demeure obscur.

Dans le cas d'un cacao de Côte d'Ivoire Amelonado, qualité courante, la teneur globale en méthyl pyrazines, composés caractéristiques des produits alimentaires ayant subi un traitement thermique n'est pas un bon indicateur du niveau de torréfaction. En effet, la tétraméthyl pyrazine, composé majeur par son abondance relative, n'a pas une origine exclusivement thermique, mais est formée en grande partie pendant la fermentation. En revanche l'accroissement de la concentration en diméthyl pyrazines et en triméthyl pyrazine dans les nibs de cacao est bien lié à l'intensité du chauffage. A priori ces composés peuvent être considérés comme des indicateurs du niveau torréfaction.

Les aldéhydes de Strecker et leur produit d'aldocondensation ne s'accumulent pas en fonction de l'intensité de torréfaction.

Ces résultats montrent la difficulté d'établir une relation simple entre la teneur de ces composés et l'arôme d'un cacao torréfié.

La balance de ces composés est essentielle à la qualité d'un arôme cacao. L'évaluation organoleptique de l'arôme cacao reste encore le moyen le plus sûr pour établir un jugement qualitatif et apprécier le niveau de torréfaction d'un cacao.

Dans la deuxième partie, nous avons étudié le moyen de produire un arôme cacao plus développé, en augmentant la teneur en précurseurs d'arôme naturels des nibs de cacao.

La supplémentation en précurseurs d'arôme du cacao, par apport exogène, permet d'accroître la concentration de certains constituants de l'arôme.

La supplémentation exclusive en fructose, modifie la proportion relative des méthyl pyrazines, avec un accroissement sensible de la teneur en diméthyl pyrazines.

L'augmentation de la concentration en fructose, glucose, valine, leucine et phénylalanine, dans les nibs, par infiltration, accroît la teneur en aldéhydes de Strecker, correspondant à ces précurseurs.

Le véritable objectif de cette étude est atteint : la supplémentation en précurseurs d'arôme permet d'obtenir un cacao torréfié possédant un arôme plus développé. La même perception aromatique est obtenue avec un cacao, traité avec une économie de matière première de 20%.

Ces résultats amènent à faire les remarques suivantes :

- Le rôle des composés phénoliques, en particulier de l'épicatéchol, dans la formation de l'arôme demeure à préciser clairement : effet inhibiteur ou rétenteur. Une étude détaillée en système modèle sur la contribution de ces composés est nécessaire.
- L'étude de l'évolution des précurseurs d'arôme, des pyrazines et des aldéhydes au cours de la torréfaction pourrait être complétée par une étude des mécanismes réactionnels conduisant à la formation de l'arôme in situ.
- Les cacaos d'Amérique Centrale sont réputés pour la finesse de leur arôme. Ces cacaos présentent une composition en précurseurs différente du cacao ivoirien. Nous avons insisté sur le rôle prépondérant du fructose dans la formation de l'arôme, or ces cacaos en contiennent peu, et sont riches en saccharose en raison de leur faible fermentation. Une étude analogue à la notre serait intéressante sur ces produits.
- L'augmentation de la teneur en acides aminés sous forme libre par voie enzymatique, par l'utilisation de l'activité résiduelle protéolytique du cacao ou de protéases s'est révélée infructueuse. Cependant ces travaux sont partiels, et demandent à être approfondis notamment au niveau de l'emploi d'endoprotéases.

ANNEXES

Annexe 1

Liste des composés identifiés dans l'arôme du cacao torréfié.

Acides

Acide acétique	1,4,19
Acide phényl-2 acétique	1,5,11,14,15
Acide (hydroxy-2 phényl)-2 acétique	1,11,14,15
Acide (hydroxy-4 phényl)-4 acétique	1,11,14,15
Acide (méthoxy-2 phényl)-2 acétique	14
Acide (méthoxy-4 phényl)-2 acétique	14
Acide butanoïque	1,19
Acide méthyl-2 butanoïque	1,2,4,19
Acide méthyl-3 butanoïque	2,4
Acide hydroxy-2 méthyl-3 butanoïque	11
Acide hydroxy-3 oxo-2 butanoïque	26
Acide méthyl-3 oxo-2 butanoïque	26
Acide benzoïque	4,5
Acide hydroxy-4 benzoïque	1,11,14,15
Acide méthoxy-2 benzoïque	4,11
Acide méthoxy-4 benzoïque	1,4,11,14
Acide dihydroxy-3,4 benzoïque	1,11,15
Acide hydroxy-4 méthoxy-3 benzoïque	1,14,15
Acide diméthoxy-3,5 hydroxy-4 benzoïque	1,11,15
Acide hydroxy-4 cinnamique	1,11,15
Acide hydroxy-4 méthoxy-3 cinnamique	1,11,15
Acide formique	1,4,19
Acide hydroxy-4 méthoxy-3 glutarique	4
Acide oxo-2 glutarique	26
Acide hexanoïque	1,4,5
Acide amino-6 oxo-2 hexanoïque	26
Acide hexène-2 oïque	10
Acide hexène-3 oïque	10
Acide heptadécanoïque	5
Acide pentanoïque	1,4,19
Acide méthyl-3 pentanoïque	10
Acide oxo-4 pentanoïque	18
Acide hydroxy-2 méthyl-3 pentanoïque	4,11
Acide hydroxy-2 méthyl-4 pentanoïque	4,11
Acide méthyl-4 oxo-2 pentanoïque	26
Acide méthyl-3 oxo-2 pentanoïque	26
Acide guanido-5 pentanoïque	26
Acide propanoïque	1,4
Acide hydroxy-2 propanoïque	4,18,19
Acide oxo-2 propanoïque	18
Acide hydroxy-3 oxo-2 propanoïque	26
Acide (hydroxy-4 phényl)-3 propanoïque	26
Acide (hydroxy-4 phényl)-3 oxo-2 propanoïque	26
Acide phényl-3 oxo-2 propanoïque	26
Acide imidazolyl-3 oxo-2 propanoïque	26

Acide oxalique	4
Acide malonique	4
Acide succinique	4,19
Acide oxo-2 succinique	26
Acide octanoïque	1,5
Acide nonanoïque	1,5,11
Acide décanoïque	5
Acide dodécanoïque	5,20a
Acide tétradécanoïque	5,20a
Acide hexadécanoïque	5,20a

Alcools

Méthanol	1,11
Ethanol	1,11
Phényl-1 éthanol	2
Phényl-2 éthanol	2
Propanol-1	1,11
Propanol-2	1,11
Méthyl-2 propanol-1	11
Phényl-2 propanol-2	1
Méthyl-2 phényl-3 propanol-2	11
Butanol	1,11
Méthyl-3 butanol	1,11,20a
Butanediol-2,3	1,11,19
Pentanol-1	1,2,20a
Pentanol-2	1,20a
Hexanol-1	1,11
Hexanol-3	20a,22
Heptanol-2	2,20a
Octanol-1	11
Octène-1 ol-3	1,11
Diméthyl-3,7 octadiène-1,6 ol-3 (linalol)	2,11
Diméthyl-3,7 octadiène-2,6 ol-1 (géraniol)	11
Bornéol	11
Menthol	11
Terpinéol	11
Terpinénol-1	11
Terpinénol-4	11
Alcool benzylique	1,4

Aldéhydes

Formaldéhyde	18
Acétaldéhyde	1,11,18
Phénylacétaldéhyde	1,4,5,11,20a
Propanal	1,11
Propenal (acroléine)	1,11
Hydroxy-2 propanal	18
Méthyl-2 propanal (isobutyraldéhyde)	1,11
Butanal	1,11
Méthyl-3 butanal (isovaléraldéhyde)	1,11
Butène-2 al	1,11

Méthyl-2 butène-2 al	11
Méthyl-2 butanal	2,16
Phényl-2 butène-2 al	5
Pentanal	4
Méthyl-4 phényl-2 pentène-2 al	5
Hexanal	11
Isopropyl-5 méthyl-2 hexène-2 al	5
Méthyl-5 phényl-2 hexène-2 al	5
Octanal	11
Octadiène-2,4 al	1,11
Diméthyl-3,7 octène-2 al	24
Nonanal	11
Décanal	11
Benzaldéhyde	11
Citronellal	1,11
Glyoxal	18
Hydroxy acétaldéhyde	18

Cétones

Acétone	1,11,17,19
Butanone-2	5
Butadione-2,3	1,5,11,19
Phényl-4 butanone-2	4
Phényl-3 propanone-2	4,5
Hydroxy-3 Butanone-2	1,2,11,19
Pentanone-2	4
Pentadione-2,3	1,5,11,19
Méthyl-3 cyclopentadione-1,2	1,5,11
Acétyl-1 isopropènyl-4 cyclopentène-1	4,5
Trans pentène-3 one-2	5
Hexanone-3	4
Méthyl-5 hexanone-2	4,11
Heptanone-2	2,4
Méthyl-6 heptène-5 one-2	1,2,11
Octanone-2	2,4
Octanedione-4,5	1,5
Nonanone-2	2
Undécane-2	2
Hexadécane-2	20a
Heptadécane-3	1,5
Acétophénone	2,4,5,19,20a
Méthyl-4 acétophénone	4,5
Camphor	4,5
Menthone	4,5
Dihydroxy acétone	18

Esters

Acétate de méthyle	1,11
Acétate d'éthyle	1,5,11
Acétate de propyle	1,11

Acétate d'isoprpyle	1,11
Acétate de butyle	1,11
Acétate d'isobutyle	1,5,11
Acétate de méthyl-3 butyle	2,4,5,11,20a
Acétate de méthyl-2 butyle	2,4
Acétate d'amyle	1,11
Acétate de pentyle-2	1,5,11
Acétate de géranyle	4,11
Acétate de néryle	4,11
Acétate de linalyle	1,4,11
Acétate de phényle	11
Acétate de benzyle	2
Acétate de phényl-2 éthyle	1,2,4,5,11,19
Acétate de phényl-3 propyle	4,11
Acétate de terpinye	4
Propanoate d'éthyle	1,11
Propanoate d'amyle	1,11
Propanoate d'hexyle	1,11
Hydroxy-2 propanoate d'éthyle	4
Oxo-2 propanoate de méthyle	4
Oxo-2 propanoate d'éthyle	4
Ethoxy-3 propanoate d'éthyle	4
Diéthoxy-2,2 propanoate d'éthyle	4
Méthyl-3 butène-2 oate d'éthyle	4,11
Phényl-2 acétate de méthyle	1,4,11,19
Phényl-2 acétate d'éthyle	1,4,11,19
Butanoate d'amyle	1,11
Butanoate d'hexyle	1,11
Butène-2 oate d'éthyle	11
Méthyl-3 butanoate d'éthyle	4
Hydroxy-2 méthyl-3 butanoate d'éthyle	4
Méthyl-4 pentanoate d'éthyle	4
Méthyl-4 pentène-2 oate d'éthyle	4,11
Méthyl-4 pentène-3 oate d'éthyle	4,11
Oxo-4 pentanoate d'éthyle	4,11
Hydroxy-2 méthyl-4 pentanoate d'éthyle	4
Hexanoate d'éthyle	1,2,4,11
Heptène-3 oate d'éthyle	2,19
Octanoate d'éthyle	2,4,20a
Nonanoate d'éthyle	4
Décanoate d'éthyle	2,4
Dodécanoate d'éthyle	2,20a
Tétradécanoate d'éthyle	2,20a
Benzoate d'éthyle	1,2,4,11
Benzoate d'isobutyle	11
Benzoate d'isoamyle	5
Méthoxy-4 benzoate de méthyle	4
Amino-2 benzoate de méthyle	3
Hexadécanoate d'éthyle	20a
Octadécanoate d'éthyle	20a
Octadécanoate d'éthyle	20a
Octadécanoate de méthyle	20a
Succinate d'éthyle	4
Succinate de diéthyle	1,4
Cinnamate d'éthyle	2

Valencène	4,11
Benzène	1,11
Toluène	1,3,11,17
Ethyl benzène	3
Vinyl benzène	3,4,11
Propyl benzène	4,11
Isopropyl benzène	4,11
O-xylène	3,4,11
M-xylène	3,4,11
P-xylène	3,4,11
Ethyl-2 toluène	4
Ethyl-3 toluène	4,11
Ethyl-4 toluène	4,11
Isopropyl-4 toluène	4,11
Diéthyl-1,2 benzène	3
Diéthyl-1,3 benzène	3
Diéthyl-1,4 benzène	3
Triméthyl-1,2,4 benzène	4,11
Triméthyl-1,3,5 benzène	4,11
Diméthyl-1,4 éthyl-2 benzène	4,11
Diméthyl-2,4 vinyl-1 benzène	4,11
Diméthyl-1,3 vinyl-2 benzène	4,11
Tétraméthyl-1,2,3,5 benzène	3,4,11
Biphényle	3
Méthyl-2 biphényle	2,3
Méthyl-3 biphényle	2,3
Naphtalène	2,3,4
Méthyl-1 naphtalène	3
Méthyl-2 naphtalène	2,3,4
Diméthyl naphtalène	2,3
Triméthyl naphtalène	2
Tétraméthyl naphtalène	2
Diphényl méthane	3
Diphényl-1,2 éthane	3
Diphényl-1,1 éthane	3
Diphényl-1,1 éthylène	3
Diméthyl-2,6 vinyl-1 benzène	3
Cyclohexane	20a
Méthyl cyclohexane	20a

Lactones

Gamma-butyrolactone	1,5,11,16
Gamma-valérolactone	1,11
Alpha-méthyl gamma-butyrolactone	1,11,16
Gamma-caprolactone	1,11,16
Gamma-nonolactone	2
Dihydroxy-6,7 coumarine	1,11

Oxazoles

Diméthyl-2,5 oxazole	3
Diméthyl-4,5 oxazole	3,10

Ethers

Ether isopropylique	1,4
Ether éthyl benzylique	1,4
Diméthoxy-1,1 phényl-2 éthane	1,4
Diéthoxy-1,1 éthane	4
Diéthoxy-1,1 méthyl-2 éthane	4
Diéthoxy-1,1 méthyl-2 butane	4
Diéthoxy-1,1 méthyl-3 butane	4
Ethoxy-1 (méthyl-2 propoxy)-1 méthyl-3 butane	4
Diéthoxy-1,1 méthyl-2 propane	1
Ethoxy-1 isobutoxy-1 méthyl-3 butane	1
Diéthoxy-1,1 céto-3 butane	1
Cinnéole-1,4	1,4,5,11
Cinnéole-1,8	1,4,5,11

Furannes

Furanne	1,11,17
Méthyl-2 furanne	1,11,17,19
Propyl-2 furanne	5,11
Phényl-3 furanne	4,11
Acétyl-2 furanne	1,2,5,11
Ethyl-2 furanne	20a,22
Acétyl-2 méthyl-5 furanne	5,11
Méthyl-2 tétrahydrofuranne	5
Furfural	1,5,11
Méthyl-5 furfural	4,11,20a
Alcool furfurylique	4,11,17
Acétate de furfuryle	1,11
Méthyl-2 tétrahydrofurannone-3	1,5,11
Dihydro furannone-2	5
Hydroxy-4 diméthyl-2,5 furannone-3	18
Sulfure de méthyle et de méthyl-5 furfuryle	1,11
Furanne-2 carboxylate de méthyle	4
Furanne-2 carboxylate d'éthyle	4
Vinyl-2 méthyl-2 (hydroxy-1 méthyl-1 éthyl)-5 tétrahydrofuranne	1,4,11

Hydrocarbures

Undécane	2,4
Dodécane	2
Tridécane	2
Tétradécane	2,3
Hexadécane	3
Heptadécane	3
Octadécane	2
B-myrcène	2,4
Limonène	4,11
B-élémente	4,11
B-pinène	4,11
B-caryophyllène	4,11

Triméthyl-2,4,5 oxazole	3
Propyl-2 méthyl-5 oxazole	3
Acétyl-2 oxazole	9,10
Isopropyl-2 dibutyl-4,5 oxazole	9,10
Diméthyl-2,5 butyl-4 oxazole	9,10,12,25
Méthyl-2 éthyl-4 propyl-5 oxazole	9,10,12,25
Méthyl-2 éthyl-4 butyl-5 oxazole	9,10,12,25
Butyl-2 méthyl-4 éthyl-5 oxazole	9,10,12,25
Dibutyl-4,5 oxazole	9,10
Isopropyl-2 éthyl-4 méthyl-5 oxazole	12,25
Dibutyl-2,5 méthyl-4 oxazole	12,25
Isoprpyl-2 diméthyl-4,5 oxazole	9,10
Méthyl-2 dibutyl-4,5 oxazole	10

Phénols

Phénol	1,2,4,11
Méthoxy-2 phénol	1,2,5,11
Méthyl-4 méthoxy-2 phénol	1,2,11,19
(propène-2-yl)-4 méthoxy-2 phénol	1,2,11
Diméthyl-2,3 phénol	5
Ethyl-4 phénol	1,11
Méthyl phénol	1,11,19
(propène-2-yl)-1 méthylènedioxy-3,4 benzène	4,5,11
O-hydroxy acétophénone	2

Pyrazines

Mono substituées

Méthyl-2 pyrazine	1,4,5,6,7,8,10,11
Ethyl-2 pyrazine	5,7,8
Acétyl-2 pyrazine	8,10
Propyl pyrazine	3,8
Isopropyl pyrazine	4,8,10
Isopropènyl pyrazine	3,8,10
Furyl-2 pyrazine	3,8,10
Propènyl-1 pyrazine	10

Disubstituées

Diméthyl-2,3 pyrazine	1,2,4,5,6,7,8,10,11
Diméthyl-2,5 pyrazine	1,2,4,5,6,7,8,10,11
Diméthyl-2,6 pyrazine	1,2,4,5,6,7,8,10,11
Ethyl-2 méthyl-3 pyrazine	3,7,8,10,19
Ethyl-2 méthyl-5 pyrazine	4,5,6,7,8,10
Méthyl-2 vinyl-6 pyrazine	3,7,8,10
Méthyl-2 vinyl-5 pyrazine	9,10
Méthyl-2 acétyl-5 pyrazine	3,8
Méthyl-2 propyl-5 pyrazine	3,8
Méthyl-2 propyl-6 pyrazine	8
Méthyl-2 isopropyl-3 pyrazine	3,8,10
Méthyl-2 isopropyl-6 pyrazine	3,8
Méthyl-5 isopropyl-2 pyrazine	10

Acétyl-2 éthyl-3 pyrazine	9,10
(méthyl-2 butyl)-2 méthyl-3 pyrazine	3,8
(méthyl-2 butyl)-2 méthyl-6 pyrazine	4,8,11
(méthyl-5 furyl-2)-2 méthyl-5 (ou 6) pyrazine	3
(diméthyl-3(ou 4),5 furyl-2)-2 méthyl-5(ou 6) pyrazine	9
(furyl-2)-2 méthyl-3 pyrazine	10
Méthyl-2 isobutyl-3 pyrazine	10
Méthyl-2 isobutyl-6 pyrazine	3,4,8
Isobutényl-2 méthyl-3 pyrazine	8
(furyl-2)-5 méthyl-2 pyrazine	3,8
(furyl-2)-6 méthyl-2 pyrazine	3,8
Pentyl-2 méthyl-3 pyrazine	3,8,10
Pentyl-2 méthyl-5 pyrazine	3,8
Isopentyl-2 méthyl-3 pyrazine	3,8
Isopentyl-2 méthyl-6 pyrazine	4,5,8,11
Diéthyl-2,5 pyrazine	4,8
Diéthyl-2,3 pyrazine	10
Ethyl-2 propyl-6 pyrazine	3,8,10
Ethyl-2 acétyl-5 pyrazine	3,8
Ethyl-2 isopropyl-5 pyrazine	3,8
Acétyl-2 méthyl-3 pyrazine	9,10
Butyl-2 méthyl-3 pyrazine	10,20a
Méthyl-2 propényl-6 pyrazine	10

Trisubstituées

Triméthyl pyrazine	4,5,6,11,20a
Diméthyl-2,3 éthyl-5 pyrazine	1,2,3,4,5,6,7,8
Diméthyl-2,6 éthyl-3 pyrazine	4,5,8,20a
Diméthyl-2,5 éthyl-3 pyrazine	2,10,20a
Diméthyl-2,5 butyl-3 pyrazine	4,5,8
Diméthyl-2,6 butyl-3 pyrazine	3,8
Diéthyl-2,5 méthyl-3 pyrazine	3,8,10,20a
Diéthyl-2,3 méthyl-5 pyrazine	3,8
Diméthyl-2,6 pentyl-3 pyrazine	3,8
Diméthyl-2,5 isopentyl-3 pyrazine	2,4,8
Diméthyl-2,3 (méthyl-2 butyl)-5 pyrazine	2,8
Diméthyl-2,5 (méthyl-2 butyl)-3 pyrazine	3,4,8
Diméthyl-2,6 (méthyl-2 butyl)-3 pyrazine	3,4,8
Triéthyl pyrazine	3,8
Diméthyl-2,5 éthyl-3 pyrazine	1,2,4,5,6,7,8,11
Diméthyl-2,5 propyl-3 pyrazine	2,8,10
Diméthyl-2,5 isopropyl-3 pyrazine	3,8
Diméthyl-2,6 isopropyl-3 pyrazine	3,8
Diméthyl-2,5 isobutyl-3 pyrazine	4,8,10
Diméthyl-3,5 isobutyl-2 pyrazine	10
Diméthyl-2,5 pentyl-3 pyrazine	3,8
Diméthyl-2,3 isopentyl-5 pyrazine	10
Diméthyl-2,6 isopentyl-3 pyrazine	4,8,11
Diméthyl-2,5 isopentyl-3 pyrazine	2,10
Diméthyl-3,5 butyl-2 pyrazine	10,20a
Diméthyl-3,6 butyl-2 pyrazine	10
Diméthyl-2,3 butyl-5 pyrazine	10

Tétra substituées

Tétraméthyl pyrazine	1,2,4,5,6,7,8,11
Ethyl triméthyl pyrazine	2,4,5,8,10
Isopentyl triméthyl pyrazine	2,8
(méthyl-2 butyl) triméthyl pyrazine	2,8
Diméthyl-2,5 diéthyl-3,6 pyrazine	4,8,11
Diméthyl-2,6 diéthyl-3,5 pyrazine	4,8,11
Pentyl triméthyl pyrazine	10
Propyl triméthyl pyrazine	10
Isopropyl triméthyl pyrazine	10
Isobutyl triméthyl pyrazine	10
Butyl triméthyl pyrazine	10

Cycloalkyl pyrazines

Dihydro-6,7-5H-cyclopentapyrazine	3,8
Méthyl-2 dihydro-6,7-5H-cyclopentapyrazine	3,8,10
Ethyl-2 dihydro-6,7-5H-cyclopentapyrazine	3,8,10
Diméthyl-2,3 dihydro-6,7-5H-cyclopentapyrazine	3,8
Diméthyl-2,5 dihydro-6,7-5H-cyclopentapyrazine	3,8,10
Diméthyl-3,5 dihydro-6,7-5H-cyclopentapyrazine	3,8
Méthyl-2 éthyl-3 dihydro-6,7-5H-cyclopentapyrazine	3,8
Méthyl-5 dihydro-6,7-5H-cyclopentapyrazine	10
Diméthyl-5,7 dihydro-6,7-5H-cyclopentapyrazine	10
Ethyl-5 dihydro-6,7-5H-cyclopentapyrazine	10
Triméthyl-2,3,5 dihydro-6,7-5H-cyclopentapyrazine	10
Méthyl-2 éthyl-5 dihydro-6,7-5H-cyclopentapyrazine	10
Ethyl-2 méthyl-5 dihydro-6,7-5H-cyclopentapyrazine	10

Pyridines

Hydroxy-2 pyridine	10
Acétyl-2 pyridine	3,10
Butyl-3 pyridine	10
Phényl-3 pyridine	3,10
Pyridine	3
Méthyl-2 pyridine	3
Vinyl-3 pyridine	3
Méthyl-2 éthyl-5 pyridine	3
Phényl-3 méthyl pyridine (2 isomères)	3

Pyrones

Hydroxy-3 méthyl-2 pyrone-4	1,11,17
Dihydro-2,3 dihydroxy-3,5 méthyl-2 pyrone-4	23

Pyrroles

Pyrrole	1,11
Formyl-2 pyrrole	1,11
Acétyl-2 pyrrole	1,4,5,11,20a

Méthoxy-carbonyl-1 pyrrole	11
Méthoxy-carbonyl-2 pyrrole	4,11
Méthyl pyrrole	20a,22
Ethyl pyrrole	20a,22
Propionyl-2 pyrrole	4,11
Méthyl-1 formyl-2 pyrrole	1,11
Méthyl-5 formyl-2 pyrrole	1,11
Ethyl-1 formyl-2 pyrrole	11
Amyl-1 formyl-2 pyrrole	11
Amyl-1 acétyl-2 pyrrole	4,11
Acétyl-2 chloro-5 pyrrole	12
Acétyl-2 bromo-5 pyrrole	9
Méthyl-1 butyl-2 pyrrole	9
Furfuryl-1 formyl-2 pyrrole	9
Méthyl-2 pyrrole aldéhyde	1,4
Ethyl-2 pyrrole aldéhyde	4
Amyl-2 pyrrole aldéhyde	4
Carboxy-2 pyrrole aldéhyde	5

Quinoléines

Quinoléine	3
------------	---

Quinoxalines

Tétrahydro-5,6,7,8 quinoxaline	3,8,10
Méthyl-2 tétrahydro-5,6,7,8 quinoxaline	3,8
Méthyl-5 tétrahydro-5,6,7,8 quinoxaline	3,8
Méthyl-2 quinoxaline	3,8,10
Diméthyl-2,3 quinoxaline	3,8
Diméthyl-2,5 quinoxaline	3,8
Quinoxaline	10
Diméthyl-5,8 tétrahydro-5,6,7,8 quinoxaline	10
Diméthyl-5,7 tétrahydro-5,6,7,8 quinoxaline	10
Ethyl-2 tétrahydro-5,6,7,8 quinoxaline	10

Thiazoles

Isopropyl-2 méthyl-4 thiazole	10,21,25
Pentyl-2 thiazole	10,21,25
Benzothiazole	2,4,21
Méthyl-4 vinyl-5 thiazole	13,21
Acétyl-2 méthyl-5 thiazole	10,21
Isopropyl-2 dibutyl-4,5 thiazole	10,21
Isopropyl-2 diméthyl-4,5 thiazole	10,21
Méthyl-4 (hydroxy-2 éthyl)-5 thiazole	13,21

Composés azotés

Phénylacétonitrile	4,11,20a,20b
--------------------	--------------

Isobutyl acétonitrile	4,11
Méthyl amine	1,11
Diméthyl amine	1,11
Triméthyl amine	1,11
Isobutyl amine	1,11
Amino-2 butane	1,11
Triéthyl amine	1,11
Isoamyl amine	1,11
Phényl-2 éthyl amine	1,11
Benzonitrile	1,4

Composés soufrés

Sulfure de diméthyle	1,5,11,17,21,24
Disulfure de diméthyle	1,2,4,5,11,17,19,21
Trisulfure de diméthyle	5,11,21
Tétrasulfure de diméthyle	9,21
Sulfure de méthyle et d'éthyle	4,21
Disulfure d'isopropyle et de méthyle	4,11,21
Trisulfure d'isopropyle et de méthyle	11,21
Trisulfure de propyle et de méthyle	1,4,21
Disulfure de benzyle et de méthyle	4,11,21
Sulfure de benzyle et de méthyle	8,21
Trisulfure de dipropyle	8,11,21
Méthylthio-2 isobutyraldéhyde	4,11,21
Sulfure de méthyl-5 furfuryle et de méthyle	1,8,11,21
Isobutyl thiocyanate	4,11
Benzyl isothiocyanate	20a,20b
Méthylthio-3 propanal	5,21

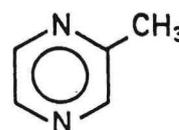
Références

- | | |
|--------------------------------------|------------------------------|
| 1 MARION et al.(1967). | 22 THOMSON (1984). |
| 2 FLAMENT et al.(1967). | 23 SCHNEE et EICHNER (1987). |
| 3 VITZTHUM et al.(1975). | 24 LOPEZ et QUESNEL (1976). |
| 4 VAN DER WAAL et al.(1971) | 25 HO et al.(1983). |
| 5 VAN PRAAG et al.(1968). | 26 NEY (1985). |
| 6 RIZZI (1967). | |
| 7 MANIERE et DIMICK (1979). | |
| 8 VAN STRATEN et DE VRIJER (1977). | |
| 9 CARLIN et al.(1982). | |
| 10 CARLIN et al.(1986). | |
| 11 ROHAN (1969). | |
| 12 HO et al.(1982). | |
| 13 STOLL et al.(1967). | |
| 14 QUESNEL et ROBERTS (1963). | |
| 15 QUESNEL (1965). | |
| 16 MUGGLER-CHAVAN et REYMOND (1967). | |
| 17 BAILEY et al.(1962). | |
| 18 FORSTER (1978). | |
| 19 DIETRICH et al.(1964). | |
| 20a GILL et al.(1984a). | |
| 20b GILL et al.(1984b). | |
| 21 HOSKIN et DIMICK (1984). | |

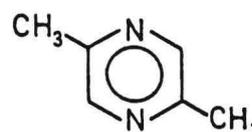
Annexe 2

Structure des méthyl pyrazines du cacao

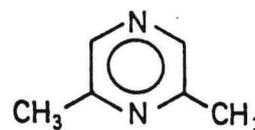
Méthyl-2 pyrazine



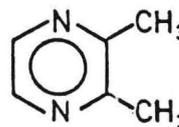
Diméthyl-2, 5 pyrazine



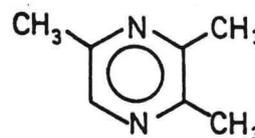
Diméthyl-2, 6 pyrazine



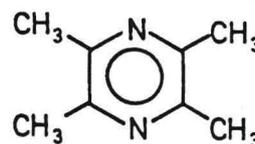
Diméthyl-2, 3 pyrazine



Triméthyl-2, 3, 5 pyrazine



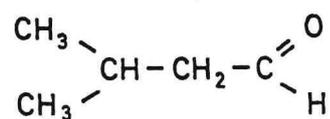
Tétraméthyl-2, 3, 5, 6 pyrazine



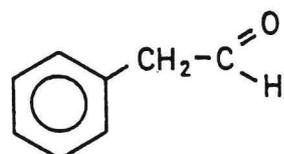
Annexe 3

Structure des aldéhydes du cacao

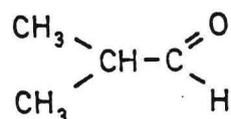
Isovaléraldéhyde



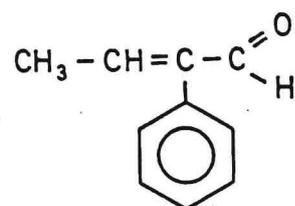
Phénylacétaldéhyde



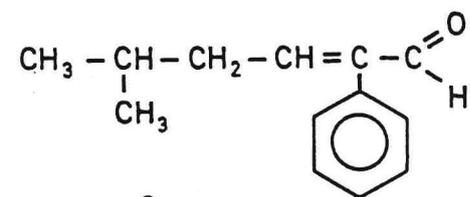
Isobutyraldéhyde



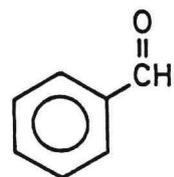
Phényl-2 butèneal-2



Méthyl-5 phényl-2 hexèneal-2

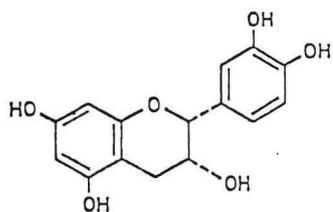


Benzaldéhyde

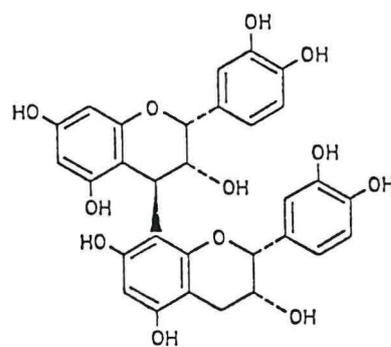


Annexe 4

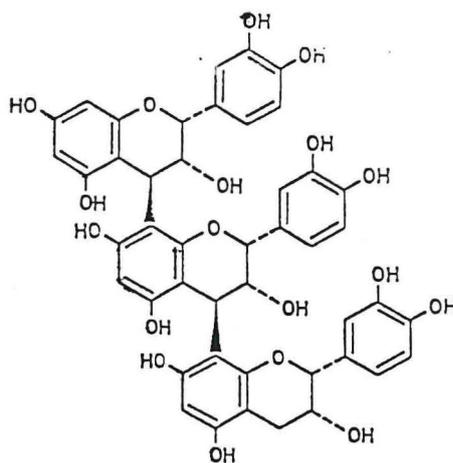
Structure des procyanidols du cacao



(-)-épicatechol



procyanidol B-2



procyanidol C-1

Annexe 5

Teneur en acides aminés libres (g/100g) en fonction de la température de torréfaction (durée 15 minutes).

	T	110°C	120°C	130°C	140°C	150°C	160°C	170°C
Ac. aspartique	0.026	0.018	0.021	0.018	0.017	0.015	0.013	0.009
Ac. glutarique	0.073	0.048	0.044	0.026	0.021	0.008	0.004	0.003
Asparagine	0.046	0.031	0.031	0.024	0.024	0.015	0.012	0.003
Sérine	0.034	0.020	0.021	0.018	0.018	0.013	0.011	0.007
Glutamine	0.022	0.004	0.004	0.004	0.003	0.002	0.001	tr
Histidine	0.018	0.011	0.009	0.006	0.005	0.003	0.002	0.001
Glycine	0.017	0.008	0.009	0.007	0.007	0.006	0.004	0.004
Thréonine	0.032	0.018	0.018	0.017	0.012	0.009	0.006	0.004
Arginine	0.066	0.046	0.048	0.039	0.036	0.028	0.020	0.016
Alanine	0.062	0.048	0.051	0.044	0.043	0.034	0.024	0.018
Butyrolactone	0.032	0.025	0.025	0.021	0.021	0.012	0.007	0.004
Tyrosine	0.055	0.050	0.049	0.035	0.033	0.026	0.004	0.008
Méthionine	0.009	0.007	0.007	0.005	0.004	0.003	0.002	tr
Valine	0.055	0.041	0.042	0.033	0.032	0.024	0.016	0.010
Phénylalanine	0.088	0.076	0.074	0.051	0.046	0.033	0.018	0.010
Isoleucine	0.037	0.028	0.028	0.023	0.022	0.016	0.011	0.006
Leucine	0.114	0.090	0.088	0.064	0.060	0.040	0.023	0.012
Lysine	0.037	0.034	0.032	0.027	0.029	0.017	0.012	0.007
Total	0.823	0.603	0.601	0.462	0.433	0.304	0.190	0.124
Consommation	0%	26.7%	26.9%	43.8%	47.4%	63%	76.9%	84.9%

T = cacao non torréfié tr = <0.001

Annexe 6

Teneur en acides aminés libres (g/100g) en fonction de la température de torréfaction (durée 25 minutes).

	T	110°C	120°C	130°C	140°C	150°C	160°C	170°C
Ac. aspartique	0.026	0.018	0.018	0.016	0.015	0.011	0.011	0.008
Ac. glutarique	0.073	0.043	0.034	0.019	0.012	0.004	0.004	0.003
Asparagine	0.046	0.030	0.028	0.021	0.018	0.010	0.007	0.004
Sérine	0.034	0.020	0.020	0.016	0.015	0.010	0.010	0.006
Glutamine	0.022	0.004	0.005	0.003	0.003	0.002	0.001	tr
Histidine	0.018	0.010	0.009	0.005	0.004	0.002	0.002	0.001
Glycine	0.017	0.008	0.008	0.006	0.006	0.004	0.005	0.004
Thréonine	0.032	0.016	0.015	0.010	0.010	0.006	0.005	0.002
Arginine	0.066	0.044	0.046	0.035	0.034	0.020	0.022	0.013
Alanine	0.062	0.047	0.045	0.037	0.036	0.025	0.024	0.013
Butyrolactone	0.032	0.027	0.026	0.019	0.016	0.008	0.005	0.002
Tyrosine	0.055	0.042	0.041	0.029	0.029	0.015	0.013	0.005
Méthionine	0.009	0.006	0.006	0.004	0.004	0.002	0.001	tr
Valine	0.055	0.038	0.038	0.028	0.027	0.017	0.015	0.007
Phénylalanine	0.088	0.065	0.063	0.041	0.039	0.020	0.016	0.007
Isoleucine	0.037	0.025	0.025	0.018	0.017	0.010	0.009	0.004
Leucine	0.114	0.077	0.076	0.050	0.047	0.023	0.019	0.007
Lysine	0.037	0.030	0.028	0.020	0.019	0.011	0.011	0.005
Total	0.823	0.550	0.531	0.377	0.351	0.200	0.180	0.091
Consommation	0%	33.2%	35.5%	54.2%	57.3%	75.7%	78.1%	88.9%

T = cacao non torréfié tr = < 0.001

Annexe 7

Teneur en sucres (g/100g) résiduels du cacao torréfié en fonction de la température de torréfaction (durée 15 minutes).

	110°C	120°C	130°C	140°C	150°C	160°C	170°C	Témoin
Fructose	0.237	0.110	0.024	0.007	0.005	-	-	0.472
Glucose	0.029	0.011	0.003	0.007	-	-	-	0.135

Teneur en sucres (g/100g) résiduels du cacao torréfié en fonction de la température de torréfaction (durée 25 minutes).

	110°C	120°C	130°C	140°C	150°C	160°C	170°C	Témoin
Fructose	0.131	0.066	0.012	0.005	-	-	-	0.472
Glucose	0.011	0.007	0.003	0.002	-	-	-	0.135

Annexe 8

Teneur en épicatechol (g/100g) du cacao torréfié en fonction de la température.

	110°C	120°C	130°C	140°C	150°C	160°C	170°C	Témoin
15 min	0.165	0.152	0.134	0.102	0.092	0.053	0.045	0.223
25 min	0.127	0.110	0.143	0.103	0.072	0.046	0.029	0.223

Annexe 9

Teneur en méthyl pyrazines (mg/Kg) en fonction de la température de torréfaction (durée 25 minutes).

	Témoin non torréfié	110°C	120°C	130°C	140°C	150°C	160°C	170°C
Méthyl-2 pyrazine	tr	tr	1.0	1.1		-	4.0	3.9
	tr	tr	1.0	1.0	(*)	2.3	2.6	3.7
	tr	tr	1.0	1.1	2.2	2.3	3.3	3.8
Diméthyl-2,5 pyrazine	tr	0,6	2,3	2,5		-	7,7	7,2
	tr	0,7	2,2	2,2	(*)	4,7	5,7	7,2
	tr	0,7	2,3	2,3	4,5	4,7	6,7	7,2
Diméthyl-2,6 pyrazine	tr	tr	0,6	0,8		-	2,5	2,6
	tr	tr	0,6	0,6	(*)	1,5	1,9	2,6
	tr	tr	0,6	0,7	1,4	1,5	2,2	2,6
Diméthyl-2,3 pyrazine	tr	0,5	0,9	0,9		-	2,2	2,0
	tr	0,4	0,9	0,8	(*)	1,5	1,7	2,1
	tr	0,5	0,9	0,9	1,4	1,5	2,0	2,1
Triméthyl-2,3,5 pyrazine	0,8	1,3	3,3	3,5		-	9,1	8,8
	0,8	1,4	3,4	2,9	(*)	6,4	7,9	9,6
	0,8	1,4	3,4	3,2	5,9	6,4	8,5	9,2
Tétraméthyl-2,3,5,6 pyrazine	12,7	10,1	15,5	12,4		-	14,6	13,6
	12,7	11,4	15,6	11,0	(*)	15,8	15,3	15,7
	12,7	10,8	15,6	11,7	15,0	15,8	15,0	14,7
Total	13,5	13,4	23,8	19,9	30,4	32,2	37,7	39,6

tr = <0.1 mg/kg.

* Les teneurs mesurées à 140°C lors de la détermination de la répétabilité sont reprises dans ce tableau (chapitre II 4-1-2).

Annexe 10

Teneur en méthyl pyrazines (mg/kg) en fonction de la durée de torréfaction (140°C).

	témoin	8 mn	15 mn	25 mn	35 mn
Méthyl-2 pyrazine	tr	0.4	0.9	1.7	1.6
	tr	0.4	1.0	1.6	1.8
	tr	0.4	1.0	1.7	1.7
Diméthyl-2,5 pyrazine	tr	1.0	2.1	3.8	3.1
	tr	1.2	2.2	3.1	3.2
	tr	1.1	2.2	3.5	3.2
Diméthyl-2,6 pyrazine	tr	tr	0.6	1.1	0.9
	tr	tr	0.6	0.9	1.0
	tr	tr	0.6	1.0	1.0
Diméthyl-2,3 pyrazine	tr	0.5	0.7	1.3	1.0
	tr	0.5	0.7	1.1	0.9
	tr	0.5	0.7	1.2	1.0
Triméthyl-2,3,5 pyrazine	0.8	1.7	2.7	5.0	3.8
	0.8	1.6	2.5	4.6	3.5
	0.8	1.7	2.6	4.8	3.7
Tétraméthyl-2,3,4,5 pyrazine	11.0	12.4	11.5	17.8	13.2
	12.9	12.6	10.3	14.5	12.1
	12.0	12.5	10.9	16.2	12.7
Total	12.8	16.2	18.0	28.4	23.3

tr = < 0.1 mg/kg

Témoin = cacao non torréfié

Annexe 11

Influence de la température de torréfaction sur la teneur en aldéhydes du cacao (mg/kg).

	Témoin non torréfié	110°C	120°C	130°C	140°C	150°C	160°C	170°C
Isovaléraldéhyde	18,6	18,7	39,0	39,0		32,6	31,6	18,9
	22,4	20,7	45,6	40,8	(*)	38,0	28,9	27,3
	20,5	19,7	42,3	39,9	36,6	35,3	30,3	23,1
Phényl- acétaldéhyde	10,7	5,6	14,3	-		-	9,7	-
	12,4	6,8	11,2	9,9	(*)	9,6	7,1	7,6
	11,6	6,2	12,8	9,9	11,0	9,6	8,4	7,6
Isobutyraldéhyde	0,9	1,0	2,1	1,7		1,9	2,4	1,7
	0,8	1,0	2,2	1,9	(*)	2,3	2,1	2,1
	0,9	1,0	2,2	1,8	1,6	2,1	2,3	1,9
Phényl-2 butène-2-al	0,7	-	0,7	1,4		0,8	0,7	0,8
	0,7	0,5	0,6	1,1	(*)	0,7	0,5	0,7
	0,7	0,5	0,7	1,3	0,8	0,8	0,6	0,8
Méthyl-5 phényl-2 hexène-2-al	0,7	0,6	0,7	2,0		-	-	1,7
	0,7	0,6	0,7	2,5	(*)	2,0	2,6	1,4
	0,7	0,6	0,7	2,3	1,5	2,0	2,6	1,6
Total	34,4	28,0	58,7	55,2	51,5	49,8	44,2	35,0

* Teneurs déterminées au paragraphe 4-2-2 chapitre II.

Annexe 12

Teneur en aldéhydes (mg/kg) en fonction de la durée de torréfaction à 140°C.

	Témoin (0 min)	8 min	15 min	25 min	35 min
Isovaléraldéhyde	18,4	46,8	38,8	49,7	-
	22,4	48,1	48,3	53,4	39,0
	20,4	47,5	43,6	51,6	39,0
Phénylacétaldéhyde	10,7	9,8	10,9	12,3	-
	12,4	14,3	15,2	15,9	8,6
	11,6	12,1	13,1	14,1	8,6
Isobutyraldéhyde	0,9	2,5	2,0	2,7	-
	0,8	2,5	2,4	3,1	2,3
	0,9	2,5	2,2	2,9	2,3
Phényl-2 butène-2-al	0,7	0,9	0,8	-	0,9
	0,7	1,1	0,9	0,7	0,6
	0,7	1,0	0,9	0,7	0,8
Méthyl-5 phényl-2 hexène-2-al	0,7	-	-	-	-
	0,7	1,4	1,7	1,8	1,4
	0,7	1,4	1,7	1,8	1,4
Total	34,3	64,5	61,5	71,1	52,1

Annexe 13

Influence de la concentration et de la durée de trempage sur la teneur en fructose du cacao traité (g/100g).

Concentration solution	Durée de trempage		
	2 mn	10 mn	20 mn
30 g/l	0,737 %	0,822 %	0,948 %
45 g/l	0,814 %	0,832 %	—
60 g/l	—	1,053 %	—

* teneur initiale 0,495 %

Annexe 14

Teneur en acides aminés libres (g/100g) des échantillons supplémentés en fructose après torréfaction (140°C 25 minutes).

	Tnt	Tt	30g/1 2 mn	45g/1 2 mn	30g/1 10 mn	45g/1 10 mn	30g/1 20 mn	60g/1 10 mn
Ac. aspartique	0.027	0.020	0.017	0.014	0.016	0.013	0.012	0.012
Ac. glutarique	0.078	0.026	0.018	0.016	0.016	0.013	0.013	0.010
Asparagine	0.041	0.027	0.020	0.017	0.018	0.014	0.014	0.012
Sérine	0.037	0.023	0.019	0.016	0.019	0.014	0.013	0.014
Glutamine	0.020	0.006	0.005	0.004	0.005	0.004	0.002	0.003
Histidine	0.025	0.007	0.005	0.004	0.006	0.004	0.004	0.003
Glycine	0.012	0.009	0.010	0.006	0.008	0.007	0.006	0.006
Thréonine	0.040	0.017	0.012	0.010	0.010	0.010	0.009	0.009
Arginine	0.067	0.043	0.037	0.031	0.033	0.030	0.029	0.024
Alanine	0.079	0.046	0.036	0.032	0.032	0.027	0.025	0.024
Butyrolactone	0.027	0.012	0.015	0.007	0.010	0.007	0.006	0.015
Tyrosine	0.053	0.047	0.034	0.031	0.034	0.022	0.026	0.018
Méthionine	0.007	0.006	0.005	0.004	0.005	0.005	0.005	0.004
Valine	0.061	0.035	0.036	0.025	0.025	0.022	0.021	0.019
Phénylalanine	0.087	0.053	0.048	0.037	0.037	0.033	0.033	0.026
Isoleucine	0.037	0.026	0.025	0.016	0.018	0.015	0.014	0.012
Leucine	0.120	0.067	0.056	0.043	0.043	0.036	0.036	0.030
Lysine	0.037	0.047	0.042	0.017	0.028	0.013	0.020	0.010
Total	0.855	0.517	0.440	0.330	0.363	0.289	0.288	0.241
Consommation	0%	39.5%	48.5%	61.4%	57.5%	66.2%	66.2%	71.8%

Tnt = témoin non torréfié Tt = témoin torréfié

Annexe 15

Teneur en aldéhydes (mg/kg) en fonction de la concentration (mg/kg) et de la nature des sucres réducteurs (torréfaction 140°C 25 minutes).

	Témoin	Supplémenté Glucose (G)	Supplémenté Fructose (F)	Supplémenté Fructose-Glucose (FG)
Glucose	1520	3840	1160	3430
Fructose	4950	4820	11500	9800
Total	6470	8660	12600	13230
Isobutyraldéhyde	1.9	1.4	2.5	2.7
Isovaléraldéhyde	58.3	46.4	67.5	80.2
Benzaldéhyde	2.9	2.4	3.0	2.9
Phénylacétaldéhyde	25.6	38.8	43.4	44.2
Total	88.7	89.0	116.9	130.0

Témoin = cacao non traité torréfié sucres dosés par CLHP

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- ARNOLDI A., ARNOLDI C., BALDI O. et GRIFFINI A. - 1987 - Strecker degradation of leucine and valine in a lipidic model system. J. Agric. Food Chem., **35**, 1035 - 1038.
- BAILEY S.D., MITCHELL D.G., BAZINET M.L. et WEURMAN C. - 1962 - Studies on the volatile components of different varieties of cocoa beans. J. Food Sci., **27**, 165 - 170.
- BALTES W. et MEVISSSEN L. - 1988 - Model reactions on roast aroma formation. VI. Volatile reaction products from the reaction of phenylalanine with glucose during cooking and roasting. Z. Lebensm. Unters. Forsch., **187**, 209 - 214.
- BAREL M. - 1982 - Les fractions protéiques du cacao avant et après torréfaction. Influence de la fermentation. Diplôme d'ingénieur C.N.A.M. en biochimie industrielle et agro-alimentaire, Montpellier, 92 p.
- BASTIDE P. - 1987 - Evolution et métabolisme des composés phénoliques des fèves de cacao durant leur développement au cours de la croissance et de la maturation du fruit de Theobroma cacao L. . Thèse Doct. 3ème cycle physiologie et biologie des organismes et des populations, Montpellier, 147 p.
- BEAUHAIRE J. - 1978 - Contribution à l'étude de l'arôme du cacao, influence des conditions de fermentation et de torréfaction sur la formation des composés aromatiques. Thèse, U.T.C., 104 p.
- BIEHL B. - 1972 - Enzymologische und cytologische probleme der kakao auf bereitung. An. Technol. Agric., **21**, 435.
- BIEHL B. - 1984- Cocoa fermentation and problem of acidity, over-fermentation and low cocoa flavor. International conférence on cocoa and coconuts, tome 2, 1 - 8.
- BIEHL B., BRUNNER E., PASSERN D., QUESNEL V.C. et ADOMAKO D. - 1985 - Acidification, proteolysis and flavour potentiel in fermenting cocoa beans. J. Sci. Food Agric., **36**, 583 - 598.
- BIEHL B. et PASSERN D. - 1982 - Proteolysis during fermentation - like incubation of cocoa seeds. J. Sci. Food Agric., **33**, 1280 - 1290.
- BIEHL B., PASSERN D. et SAGEMANN W. - 1982 - Effect of acetic acid on subcellular structures of cocoa bean cotyledons. J. Sci. Food. Agric., **33**, 1101 - 1109.
- BIEHL B., QUESNEL V.C., PASSERN D. et SAGEMANN W. - 1982 - Water uptake by cocoa seeds during fermentation like incubation. J.Sci. Food Agric., **33**, 1110 - 1116.
- BIEHL B., WEISETZER C. et PASSERN D. - 1982 - Vacuolar (storage) proteins of cocoa seeds and their degradation during germination and fermentation. J. Sci. Food Agric., **33**, 1291 - 1304.
- BONAR A.R., ROHAN T.A. et STEWART T. - 1968 - Veronderungen einiger bestandteirle der kakaobohnen während der vererbeitung zu schokoladen : flüchtige und nichtflüchtige säuren. Rev. Int. Choc., **23**, 294 - 297.

BRACCO U., GRAILHE N., ROSTAGNO W. et EGLI R.H. - 1969 - Analytical evaluation of cocoa curing in the ivory coast. J. Sci. Food Agric., 20, 713 - 715.

BRAUDEAU J. - 1969 - Le cacaoyer - Maisonneuve et Larose Eds., Paris, 304 p.

BROWN H.B. - 1957 - Rept. Cocoa Conf., London, 163 - 165.

CARLIN J.T., LEE K.N., HSIEH O.A.L., HWANG L.S., HO C.T. et CHANG S.S. - 1982 - Comparison of the volatile flavor compounds of cocoa butters obtained from roasted and unroasted cocoa beans. Proc. 36 ème P.M.C.A. Production Conf., 95.

CARLIN J.T., LEE K.N., HSIEH O.A.L., HWANG L.C., HO C.T. et CHANG S.S. - 1986 - Comparison of acidic and basic volatile compounds of cocoa butters from roasted and unroasted cocoa beans. J.A.O.C.S., 63, 1031 - 1036.

CHEFTEL J.C., CUQ J.L. et LORIENT D. - 1985 - Protéines alimentaires. Technique et Documentation - Lavoisier, 309p.

CHONG C.F., SHEPERD R. et POON Y.C. - 1978 - Mitigation of cocoa bean acidity - fermentary investigations. Proceeding of the international conference on cocoa and coconuts, 387 - 414.

CLOUGHLEY J.B., ELLIS R.T., PENDLINGTON S. et HUMPHREY P. - 1982 - Volatile constituents of some central african black tea clones. J. Agric. Food Chem., 30, 842 - 845.

CROS E., GUYOT B. et VINCENT J.C. - 1979 - Profil chromatographique de la fraction volatile du café. Différence entre cafés verts sain et puant. Influence de la torréfaction sur le grain et la boisson. Café, Cacao, Thé, 23, 193 - 201.

CROS E., VILLENEUVE F. et VINCENT J.C. - 1982 - Recherche d'un indice de fermentation du cacao. I. Evolution des tannins et des phénols totaux de la fève. Café, Cacao, Thé, 26, 109 - 114.

DARSLEY R.R. et QUESNEL V.C. - 1972 - The production of aldéhydes from amino acids in roasted cocoa. J. Sci. Food Agric., 23, 215 - 225.

DE WITT K.W. - 1957 - Nitrogen in fermenting cocoa. Report in cocoa research. Imperial college of Tropical agriculture, Trinidad, 54 - 57.

DIETRICH P., LEDERER E., WINTER M. et STOLL M. - 1964 - Recherches sur les arômes. Sur l'arôme du cacao. I. Helv. Chim. Acta, 47, 1581 - 1590.

DONG M.W. et GANT J.R. - 1985 - High speed liquid chromatographic analysis of amino acids by post column sodium hypochlorite - o - phthalaldéhyde reaction. J. Chromatog., 327, 17 - 25.

FLAMENT I., WILLHALM B. et STOLL M. - 1967 - Recherches sur les arômes. Sur l'arôme du cacao III. Helv. Chim. Acta, 50, 2233 - 2243.

FORS M.S. - 1983 - Sensory properties of volatile Maillard reaction products and related compounds. ACS symposium series, 215, 185 - 286.

FORS M.S. - 1987 - Isolation of pyrazines in extruded malt by stepwise extraction and distillation. Lebensm. Wiss. U. Technol, 20, 42 - 47.

FORS M.S. et OLOFSSON B.K. - 1985 - Alkylpyrazines, volatiles formed in the Maillard reaction. I. Determination of odour detection thresholds and odour intensity functions by dynamic olfactometry. Chemical Senses, 10, 287 - 296.

FORSTER H. - 1978 - What is the chocolate flavour. The manufacturing confectioner, mai, 51 - 58.

FORSYTH W.G.C. et QUESNEL V.C. - 1963 - The mechanism of cacao curing. Adv. Enzymolog., 25, 457 - 492.

FRIEDEL P., KRAMPL V., RADFORD T., RENNER J.A., SHEPARD F.W. et GIANTURCO M.A. - 1971 - Some constituents of the aroma complex of coffee. J. Agric. Food Chem., 19, 530 - 532.

GALLOIS A. - 1984 - Les pyrazines présentes dans les aliments. Etat actuel des connaissances. Sci. Alim., 4, 145 - 166.

GAUTHIER B., GUIRAUD J., VINCENT J.C., PARVAIS J.P. et GALZY P. - 1977 - Remarques sur la flore de levures de la fermentation traditionnelle du cacao en Côte d'Ivoire. Revue des fermentations et des industries alimentaires, Bruxelles, 32, 160 - 163.

GILL M.S., MC LEOD A.J. et MOREAU M. - 1984a - Volatile components of cocoa with particular reference to glucosinolate products. Phytochemistry, 23, 1937 - 1942.

GILL M.S., MC LEOD A.J. et MOREAU M.C. - 1984 b - Aroma components of cocoa beans. Progress in flavour research. Proceedings of the 4 th WEURMANN flavour symposium, Dourdan, FRANCE, 9 - 11 mai, 261 - 266.

HANSEN A.P. - 1976 - Microbiological activity and its effect on cocoa beans. Gordian, 1, 22 - 26.

HARTMAN G.J. et HO C.T. - 1984 - Volatile products of the reaction of sulfur - containing amino acids with 2,3 - butanedione. Lebensm. Wiss. U. Technol., 17, 171 - 174.

HASLAM E. - 1979 - Vegetable tannins in recent advances in phytochemistry biochemistry of plants phenolic, Vol 12, London. Plenum Press.

HAYASE F., KIM S.B. et KATO H. - 1985 - Maillard reaction produced formed from D. Glucose and glycine and the formation mechanisms of amides as major components. Agric. Biol. Chem., 49, 2337 - 2341.

HERZ W.J. et SHALLENBERGER R.S. - 1960 - Some aromas by simple amino acid sugar reactions. Food Research, 25, 491 - 494.

HO C.T., HARTMAN G.J. et JIN Q.Z. - 1982 - The formation of oxazoles and oxazolines in the strecker degradation of D, L - Methionine and L. cystine with 2,3 -butanedione. Lebensm. Wiss. U. Technol., 15, 368 - 371.

HO C.T., JIN Q.Z., LEE K.N. et CARLIN J.T. - 1982 - 2 - Acetyl S - chloropyrrole in the volatile flavor constituents of cocoa butter. J. Agric. Food Chem., 30, 362 - 364.

HO C.T., JIN Q.Z., LEE K.N. CARLIN J.T. et CHANG S.S. - 1983 - Synthesis and aroma properties of new alkyloxazoles and alkylthiazoles identified in cocoa butter from roasted cocoa beans. J. Food Sci., 48, 1570 - 1571.

HODGE J.E. - 1953 - Chemistry of browning reactions in model systems. J. Agric. Food Chem., 1, 928 - 943.

HODGE J.E. - 1967 - Origin of flavor in foods. Non enzymatic reactions. In the chemistry and physiology of flavor (Eds H.W. Schultz, E.A. Day L.M. Libbey) AVI Publishing Co, Westport Comm., 465.

HOSKIN J.C. - 1982 - The nature of flavor changes during conching in chocolate manufacture : The role of free amino acids and sulfur compounds. Thèse, Pennsylvania State University, 150p.

HOSKIN J.C. et DIMICK P.S. - 1984 - Role of sulfur compounds in the developpement of chocolate flavour. a review. Process Biochem., 19, 150 - 156.

HUMBERT B. et SANDRA P. - 1988 - Determination of pyrazines in thermally treated food products : practical experiments with coca beans. LC - GC International, 1, 58 - 60.

HURST J. et MARTIN R.A. - 1980 - Use of O. phthaldehyde derivatives and high pressure liquid chromatography in determining the free amino acids in cocoa beans. J. Agric. Food Chem., 28, 1039.

ISHIDA Y., FUSITA T. et AJAI K. - 1981 New detection and separation method for amino acids by high - performance liquid chromatography. J. Chromatog., 204, 143 - 148.

JONES B.N., PAABO S. et STEIN S. - 1981 - Amino acid analysis and enzymatic sequence determination of peptides by an improved o- phthaldialdehyde precolumn labeling procedure. J. Liq. Chromatog., 4, 565 - 566.

KAMINSKI E., PRZYBILSKI R. et GRUCHALA L. - 1981 - Thermal degradation of precursors and formation of flavour compounds during heating of cereal product. Part I Change of amino acids and sugars. Nahrung, 25, 507 - 518.

KATO H., HAYASE F. et FUSIMAKI M. - 1972 - Major volatile components formed from casein during roasting. Agric. Biol. Chem., 36, 951 - 959.

KATO S., KURATA T. et FUSIMAKI M. - 1973 - Volatile compounds produced by the reaction of L. cystine with carbonyl compounds. Agric. Biol. Chem., 37, 539 - 544.

KEENEY P.G. - 1972 - Various interactions in chocolate flavor. J.A.O.C.S., 49, 567 - 572.

KINLIN T.E., MURALIDHARA R., PITTET A.O., SANDERSON A. et WALRADT J.P. - 1972 - Volatile components of roasted filberts. J. Agric. Food Chem., 20, 1021 - 1028.

KOSUGE T. et KAMIYA H. - 1962 - Discovery of a pyrazine in a natural product. Nature, 193, 776.

KOSUGE T., ZENDA H., TSUSI K., YAMAMOTA T. et NARITA H. - 1969 - Distribution of tetramelthy pyrazine in fermented foods stuffs. Paper presented at the 89th annual meeting of the pharmaceutical society of Japan.

KOSUGE T., ZENDA H., TSUSI K., YAMAMOTO T. et NARITA H. - 1971 - Studies on flavor components of food stuffs. part. 1. Distribution of tetramethyl pyrazine in fermented food-stuffs. Agric. Biol. Chem., 35, 693 - 696.

KOEHLER P.E. MASON M.E. et NEWELL J.A. -1969 - Formation of pyrazine compounds in sugar amino-acid model system. J.Agric.Food Chem., 17, 393 - 396.

KOEHLER P.E. et ODELL G.V -1970- Factors affecting the formation of pyrazine compounds in sugar-amino reactions. J.Agric. Food Chem., 18, 895-898.

LATRASSE A., DEGORGE-DUMAS J.R. et LEVEAU J.Y. - 1985 - Production d'arômes par les micro-organismes. Sci. Alim., 5, 1 - 26.

LIEN Y.C. et NAWAR W.W. - 1974 - Thermal decomposition of some amino acids. Valine, leucine, and isoleucine. J. Food Sci., 39, 911 - 913.

LOPEZ A. - 1972 - The development of chocolate aroma from non-volatile precursors. 4 th International cocoa conference, Trinidad et Tobago, 1 - 12.

LOPEZ A. et QUESNEL V.C. - 1971 - An assesment of claims relantry to the production and composition of chocolate aroma. Rev. Int. Choc., 26, 19 - 24.

LOPEZ A. et QUESNEL V.C. - 1973 - Volatile fatty acid production in cocoa fermentation and the effect on chocolate flavour. J. Sci. Food Agric., 24, 319 - 326.

LOPEZ A. et QUESNEL V.C. - 1974 - The contribution of sulfur compounds to chocolate aroma. Internationaler Kongreb über kakao und schokoladeforschung, 8 - 10 mai, 92 - 104.

LOPEZ A. et QUESNEL V.C. - 1976 - Methyl - S - methionine sulphonium salt : a precursor of dimelthyl sulphide in cacao. J. Sci. Food Agri., 27, 85 - 88.

MAGA J.A. et SIZER C.E. - 1973 - Pyrazines in foods. A Review. J. Sci. Food Chem., 21, 22 - 30.

MANIERE F.Y. et DIMICK P.S. - 1979 - Effects of conching on the flavor and volatile components of dark semi-sweet chocolate. Lebensm. Wiss. Technol., 12, 102 - 107.

MARAVALHAS N. - 1972 - Acides aminés dans les fèves de cacao fermentées et non fermentées. R.I.C., 27, 23 - 24.

MARION J.P., MUGGLER - CHAVAN F., VIANI R., BRICOUT J., REYMOND D. et EGLI R.H. - 1967 - Sur la composition de l'arôme de cacao. Helv. Chim. Acta, 50, 155 - 156.

MEILI M. - 1985 - Etudes des corrélations entre le comportement technologique des substances aromatiques et leurs propriétés physico-chimiques. Thèse Doct. 3 ème cycle Génie enzymatique, microbiologie et bioconversion, Compiègne, 225 p.

MERMET G. - 1985 - Etude des procyanidines de la fève de Theobroma Cacao L.. Recherche d'un marqueur chimique végétal, Diplôme d'Etudes Approfondies, sciences alimentaires, Montpellier, 34 p.

MEUNIER A. , CAUDE M. et ROSSET R. - 1986 - Séparation des sucres par chromatographie en phase liquide. Analisis, 14, 363 - 377.

MEVISSSEN L. et BALTES W. - 1983 - Modell - untersuchungen zur Maillard - reaktion VIII Identifizierung fluchtiger reaktionsprodkte aus der umsetzung von D. glucose and L. phenylalaine in wabrigen medium. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 176, 206 - 207.

MOHR W., ROHRLE M., SEVERIN T. - 1971 - Uber die bildung des kakaoaromas ans seinen vorstufen. Fette Seifen Anstrichmittel, 78, 88 - 95.

MORETON R.S. - 1985 - Inactivation of cocoa seeds after treatment by heat acetic and ethanol. J. Food Technology., 20, 79 - 82.

MUGGLER-CHAVAN F. et REYNOLDS - 1967 - Constituants aromatiques de cacaos de diverses provenances. Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg., 56, 466 - 473.

NEWELL J.A., MASON M.E. et MATLOCK R.S. - 1967 - Precursors of typical and atypical roasted peanut flavor. J. Agric. Food Chem., 15, 767 - 772.

NEY K.H. - 1985 - Kakao - aroma . Neue & - ketosäuren in kakao aroma. Gordian, 85 , 88-92.

NEY K.H. - 1986 - Kakao - aroma . Kakao - schalen als ausgangsmaterial für ein kakao aroma. Gordian, 11, 204 - 205.

NURSTEN H.E. -1981 - Recent developments in studies of the Maillard reaction. Food Chem. 16, 263 - 277.

OSTOVAR K. - 1971 - Isolation and characterization of micro-organism's involved in the fermentation of trinidad's cacao beans. Ph. D., Thesis, The pennsylvania State University.

OSTOVAR K. et KEENEY P.G. - 1973 - Isolation and characterization of micro organisms involved in the fermentation of Trinidad's cacao beans. J. Food Sci., 38, 611 - 617.

OWVOR P.O. - 1986 - Flavour of black tea. A review Tea, 7, 29 - 42.

PICKENHAGEN W., DIETRICH P., KEIL B., POLONSKY J., NOUAILLE F. et LEDERER E. - 1975 - Identification of the bitter principle of cocoa. Helv. Chim. Acta, 58, 1078 - 1086.

PINTO A. et CHICHESTER C.O. - 1966- Changes in the content of free amino during roasting of cocoa beans. J. Food Sci., 31, 726 - 732.

PONTILLON J. - 1984 - La fabrication du chocolat. Pour la science, décembre, 58 - 66.

QUESNEL V.C. - 1965 - Agents inducing the death of cocoa seeds during fermentation. J. Sci. Food Agric., 16, 441 - 449.

QUESNEL V.C. -1965 - J. Sci Food Agric., 16, 596.

QUESNEL V.C. - 1968 - Oxygen consumption and production during the fermentation of cocoa, Turrialba, Rev. Interam. Ci. Agric., 18, 110 - 114.

QUESNEL V.C. - 1972 - Cacao curing in retrospect and prospect. 4 th international cocoa conference. Trinidad et Tobago, 602.

QUESNEL V.C. et ROBERTS J.B. - 1963 - Nature, 199, 605.

REINECCIUS G.A., ANDERSEN D.A., KAVANAGH T.E. et KEENEY P.G. - 1972 - Identification and quantification of the free sugars in cocoa beans. J. Agric. Food Chem., 20, 199 - 206.

REINECCIUS G.A., KEENEY P.G. et WEISSBERGER W. - 1972 - Factors affecting the concentration of pyrazines in cocoa beans. J. Agric. Food Chem., 20, 202 - 206.

REYMOND D., MUGGLER-CHAVAN F., VIANI R., VUATAZ L. et EGLI R. - 1966 - Gas chromatographic analysis of steam volatile aroma constituents : application to coffee, tea, and cocoa aromas. J. G.C, janvier, 28 - 31.

RIZZI G.P. - 1967 - The occurrence of simple alkylpyrazines in cocoa butter. J. Agric. Food Chem., 15, 549 - 551.

RIZZI G.P. - 1972 - A mechanistic study of alkylpyrazine formation in model systems. J. Agric. Food Chem., 20, 1081 - 1085.

RIZZI G.P. - 1988- Formation of pyrazine from acyloin precursors under mild conditons. J. Agric. Food Chem., 36, 349 - 352.

ROELOFSEN P.A. - 1958 - Fermentation, drying and storage of cocoa beans. Advances in food Research, 8, 225 - 296.

ROHAN T.A. - 1958 a - Processing of raw cocoa. I. Small scale fermentation. J. Sci. Food Agric., 9, 104 - 111.

ROHAN T.A. - 1958 b - Processing of raw cocoa II. Uniformity in heap fermentation and development of methods for rapid fermentation of west african Amelonado cocoa. J. Sci. Food Agric., 9, 542 - 551.

ROHAN T.A. - 1961 - New methods for large scale fermentation of cocoa. Scientific and technical surveys, 38, 13 - 17.

ROHAN T.A. - 1963 a - Precursors of chocolate aroma. J. Sci. Food Agric., 14, 799 - 800.

ROHAN T.A. - 1963 b - FAO Agricultural studies, Rome, n° 60.

ROHAN T.A. - 1964 - The precursors of chocolate aroma : a comparative study of fermented and unfermented cocoa beans. J. Food Sci., 29, 456 - 459.

ROHAN T.A. - 1969 - The flavour of chocolate. Food Processing and marketing, janvier, 12 - 16.

ROHAN T.A. et CONNELL M. - 1964 - The precursors of chocolate aroma : a study of the flavanoids and phenolic acids. J. Food Sci., 29, 460 - 463.

ROHAN T.A. et STEWART T. - 1966 a- The precursors of chocolate aroma : changes in the free amino acids during the roasting of cocoa beans. J. Food Sci., 31, 202 - 205.

ROHAN T.A. et STEWART T. - 1966 b - The precursors of chocolate aroma : studies in the degradation of amino acid during the roasting of Accra cocoa beans. J. Food Sci., 32, 625 - 629.

ROHAN T.A. et STEWART T. - 1967 - Precursors of chocolate aroma : studies in the degradation of amino acid during the roasting of Accra cocoa beans. J. Food Sci., 32, 625 - 629.

SAITTAGAROON S., KAWAKISHI S. et NAMIKI M. - 1984 - Aroma constituents of roasted coconut. Agric. Biol. Chem., 48, 2301 - 2307.

SCHIEBERLE P. et GROSCH W. - 1987 - Evaluation of the flavour of wheat and rye bread crusts by aroma extract dilution analysis. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 1985, 111 - 113.

SCHNEE R. et EICHNER K. - 1987 - Analytische bestimmung des rostgrades von kakao. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 185, 188 - 194.

SCHUTTE L. - 1974 - Precursors of sulfur containing flavour compounds. Crit. Rev. Food Tech., 4, 457.

SEIKI K. - 1973 - Chemical changes during cocoa bean fermentation using the tray method in Nigeria. Rev. Int. Choc., 28, 38 - 42.

SHANKARANARAYANA M.L., RAGHAVAN B., ABRAHAM K.O. et NATRAJAN C.P. - 1974 - Volatile sulfur compounds in food flavors. Crit. Rev. Food Tech., 5, 395.

SHIBAMOTO T., AKIYAMA T., SAKAGUCHI M., ENOMOTO Y. et MASUDA H. - 1979 - A study of pyrazine formation. J. Agric. Food Chem., 27, 847 - 851.

SHIBAMOTO T. et RUSSEL G.F. - 1976 - Study of meat volatiles associated with aroma generated in a D. glucose - hydrogen sulfide - ammonia model system. J. Agric. Food Chem., 24, 843 - 846.

SHIGEMATSU H., KURATA T., KATO H. et FUJIMAKI M. - 1972 - Volatile compounds formed on roasting D,L α alamine with D-glucose. Agr. Biol. Chem., 36, 1631 - 1637.

SHIN H.F. et CROUZET J. - 1981 - Récupération de l'arôme de café en cours de torréfaction. I. piégeage des émissions gazeuses par condensation et absorption. Café, Cacao Thé, 25, 127-136.

SHU C.K., HAGEDORN M.L., MOOKHERSE B.D. et HO C.T. - Volatile components of the thermal degradation of cystine in water. J. Agric. Food Chem., 33, 438-442.

SOLIMAN M., KINOSHITA S. et YAMANISHI T. - 1975 - Aroma of roasted sesame seeds. Agr. Biol. Chem., 39, 973 - 977.

STOFFELMA J., SIPMA G., KETTENES D.K. et PYPKER J. - 1968 - New volatile components of roasted coffee. J. Agr. Food Chem., 16, 1000 - 1003.

STOLL. M., DIETRICH P., SUNT E. et WINTER M. -1967- Recherche sur les arômes. Sur l'arôme cacao II. Helv. Chim. Acta, 50, 2065 - 2067.

TAKEI Y., SHIMADA K., WATANABE S. et YAMANISHI T. - 1974 - Volatile components of roasted almonds : basic fraction. Agr. Biol. Chem., 38, 645 - 648.

TAKEI Y. et YAMANISHI T. - 1974 - Flavor components of roasted almond. Agr. Biol. Chem., 38, 2329 - 2336.

THOMSON D. - 1984 - Advances in flavour research. Flavouring ingredients packaging and processing, 6, 42 - 60.

TIMBIE D.J. et KEENEY P.G. - 1977 - Extraction, fractionation, and amino acid composition of Brazilian comun cacao proteins. J. Agri. Food Chem., 25, 424 - 426.

TOKIMOTO Y., IKEGAMI M., YAMANISHI T., JUAN I.M. et CHIU W.T.F. - 1984 - Effects of withering and max-rolling processes on the formation of aroma components in Parchong type semi-fermented tea. Agric. Biol. Chem., 48, 87-91.

TSUGITA T., KURADA T., et KATO H. - 1980 - Volatile components after cooking rice milled to different degrees. Agric. Biol. Chem., 44, 835 - 840.

VAN DER WAL B., KETTENES D.K., STOFFELMA J., SIPMA G. et SEMPER A.T.J. - 1971 - New volatile components of roasted cocoa. J. Agr. Food Chem., 19, 276 - 280.

VAN PRAAG M., STEIN H.S., et TIBBETTS M.S. - 1968 - Steam volatile aroma constituent of roasted cocoa beans. J. Agr. Food Chem., 16, 1005 - 1008.

VAN STRATEN et DE VRIJER - 1977 - "Cocoa". In "Volatile components in food". p. 71. (Zeist. The Netherlands : Central Institute for nutrition and food research).

VIANI R., MUGGLER - CHAVAN F., REYMOND D. et EGLI R.H. - 1965 - Sur la composition de l'arôme café. Helv. Chem. Acta, 48, 1804 - 1815.

VILLENEUVE F. - 1982 - Les composés phénoliques de la fève de cacao : Theobrona cacao L. Evolution au cours de la fermentation. Thèse doct. 3ème cycle sciences agronomiques, option phytotechnie, Montpellier, 109 p.

VILLENEUVE F., CROS E. et MACHEIX J.J. - 1985 - Effet de la fermentation sur les activités peroxydasiques et polyphénoloxidasiques de la fève. Café, Cacao, Thé, 23, 113 - 120.

VIRTANEN A. J. - 1965 - Studies on organic sulfur compounds and other labile substances in plants. Phytochemistry, 4, 207.

VITZTHUM O.G., WERKHOFF P. et HUBERT P. - 1975 - Volatile components of roasted cocoa : basic fraction. J. Food Sci., 40, 911 - 916.

WANG P.S., KATO M., et FUJIMAKI M. - 1969 - Studies on flavor components of roasted barley. Part III. The major volatile basic compounds. Agric. Biol. Chem., 33, 1775 - 1781.

WANG P.S et ODELL G.V. - 1973 - Formation of pyrazines from thermal treatment of some amino-hydroxy compounds. J. Agr. Food Chem., 21, 868 - 870.

WESTPHAL G. ÖRSL F. et KROH L. - 1988 - Untersuchungen zur Maillard reaktion 15. Mit. Derivatographische untersuchungen an den systemen D glucose /glycin, alanin, phenylalanin und den entsprechenden amadori-produkten. Nahrung, 32, 109 - 110.

WINSPEAR M.J. et OAKS A. - 1983 - Automated pre-column amino acid analyses by reversed phase high performance liquid chromatography. J. Chromatog., 270, 378 - 382.

WOLF G. - 1958 - Studien über die inhaltsstoffe der kakaobohne im hinblick auf ihre beten-
dung fur die sinnesphysiologischen eigenschaften. Nahrung, 2, 948 - 968.

WONG J.M. et BERNHARD R.A. - 1988 - Effect on nitrogen source on pyrazin formation. J. Agric. Food Chem., 36, 123 - 129.

YAJIMA I., YANAI T., NAKAMURA M., SAKAKIBARA H; et HABU T. - 1978 - Volatile flavor components of cooked rice. Agric. Biol. Chem., 42, 1229 - 1233.

YAMAGUCHI K. et SHIBAMATO T. - 1981 - Volatile constituent of green tea, gyokuro (camellia sinensis L. var. Yabukita). J. Agric. Food Chem., 29, 366 - 370.

ZAK D.L., OSTOVAR K. et KEENEY P.G. - 1972 - Implication of bacillus subtilis in the syn-
thesis of tetramethyl pyrazine during fermentation of cocoa beans. J. Food Sci., 37, 967 - 968.

ZIEGLEDER G. - 1981 - Leichtflüchtige kakaoaromastoffe als leitsubstanzen bei der kakaove-
rarbeitung. Z.S.W., 34, 105-109.

ZIEGLEDER G. - 1982 a - Gaschromatographische rostgradbestimmung von über methylierte
pyrazine. Dtsch. Lebensmittel Rdsch., 78, 71 - 81.

ZIEGLEDER G. - 1982 b - Highly volatile cocoa flavour constituents as indicator during cocoa
processing. Review for chocolate, confectionary and bakery, 7, 17 - 22.

ZIEGLEDER G. - 1983 - Neue erkenntnisse über kakaoaromabildung und veredeung und ihre
um setzung in technologie verfahren. Lebensmittelchem. Gerichtliche. Chem., 37, 63- 69.

ZIEGLEDER G. et SANMEIER D. - 1983 - Röstgradbestimmung von kakao mittels höch-
druckflüssigkeitschromatographie. Dtsch. Lebensmittel. Rdsch., 79, 343 - 347.

ZORZUT C.M. et CHICHESTER C.O. - 1971 - Sulle sostanze volatili svillupate nelle opera-
zioni industriali per la preparazine del cioccolato. I Rivista Italiano D. Sostanze Grasse, 48,
3236 - 241.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	page 1
CHAPITRE I : GENERALITES - BIBLIOGRAPHIE	page 3
1 - Développement de l'arôme cacao au cours des différentes phases technologiques	page 4
2 - Quelques données bibliographiques sur les précurseurs d'arôme.....	page 14
3 - Présentation des composés volatils étudiés.....	page 16
CHAPITRE II : MATERIELS et METHODES	page 21
1 - Caractéristiques des échantillons	page 21
2 - Techniques d'extraction et d'analyse des précurseurs d'arôme.....	page 21
3 - Extraction des protéines du cacao	page 25
4 - Détermination de l'activité protéolytique résiduelle du cacao	page 26
5 - Techniques utilisées pour augmenter la teneur en précurseurs du cacao	page 26
6 - Techniques d'extraction et d'analyse des composés volatils	page 28
7 - Fiabilité des méthodes d'analyses et d'extraction des composés volatils	page 34
8 - Analyse des composés volatils formés au cours de la torréfaction de mélanges synthétiques de précurseurs.....	page 33
9 - Dispositif de récupération des composés volatils.....	page 34
10 - Identification des composés volatils de l'arôme cacao	page 38
11 - Evaluation organoleptique de l'arôme	page 38

CHAPITRE III :Contribution de quelques précurseurs à la formation de l'arôme cacao	page 39
1 - Différence de potentiel aromatique liée à la composition en précurseurs entre un cacao fermenté et non fermenté.	page 39
2 - Contribution de quelques précurseurs à l'arôme cacao. Etude de mélanges synthétiques de précurseurs	page 46
3 - Conclusion	page 53
CHAPITRE IV :Influence de la Torréfaction sur le développement de l'arôme de cacao	page 54
1 - Etude préliminaire	page 54
2 - Influence de la torréfaction sur la dégradation des précurseurs	page 68
3 - Influence de la torréfaction sur la formation des composés volatils.	page 71
4 - Conclusion	page 79
CHAPITRE V :Optimisation du développement de l'arôme de cacao	page 80
1 - Présentation du problème	page 80
2 - Supplémentation des nibs en fructose et en glucose	page 81
3 - Augmentation de la teneur en acides aminés des nibs de cacao	page 92
4 - Supplémentation simultanée en sucres réducteurs et en acides aminés	page 99
5 - Conclusion	page 103
CONCLUSION GENERALE et PERSPECTIVES.....	page 104
ANNEXES	page 106
BIBLIOGRAPHIE	page 130

Liste des figures

	Page
Figure 1 : Schéma simplifié de la réaction de Maillard (HODGE 1953).....	8
Figure 2 : Proposition de schéma de formation des pyrazines et des aldéhydes à partir des composés dicarbonylés et des acides aminés (RIZZI 1972).....	9
Figure 3 : Les différentes étapes technologiques de la fabrication des produits de la chocolaterie.....	13
Figure 4 : Dispositif d'entraînement à la vapeur utilisé pour extraire les composés volatils du cacao.....	29
Figure 5 : Chromatogramme de méthyl pyrazines d'un extrait de cacao torréfié.....	31
Figure 6 : Chromatogramme d'aldéhydes de Strecker d'un extrait de cacao torréfié.....	32
Figure 7 : Chromatogramme d'aldéhydes de Strecker et de leurs produits d'aldocondensation d'un extrait de cacao torréfié.....	33
Figure 8 : Schéma du dispositif de récupération des composés volatils émis lors de la torréfaction.....	37
Figure 9 : Chromatogramme d'un extrait de cacao non fermenté torréfié.....	44
Figure 10 : Chromatogramme d'un extrait de cacao fermenté torréfié.....	45
Figure 11 : Chromatogramme de l'essai n°2.....	48
Figure 12 : Chromatogramme de l'essai n°3.....	48
Figure 13 : Chromatogramme de l'essai n°6.....	49
Figure 14 : Chromatogramme des essais n°13 et 14.....	52
Figure 15 : Consommation des acides aminés et des sucres réducteurs en fonction de la température.....	60
Figure 16 : Evolution des sucres réducteurs et des acides aminés en fonction de la température de torréfaction.....	69
Figure 17 : Evolution de la teneur en épicatechol en fonction de la température de torréfaction.....	70
Figure 18 : Evolution de la teneur en pyrazines du cacao en fonction de la température de torréfaction (durée 25 mn).....	72

Figure 19 :	Evolution des méthyl pyrazines en fonction de la durée de torréfaction à 140°C.....	73
Figure 20 :	Evolution de la teneur en aldéhydes du cacao en fonction de la température de torréfaction (durée 25 mn).	75
Figure 21 :	Evolution de la teneur en aldéhydes du cacao en fonction du temps de torréfaction à 140°C.....	77
Figure 22 :	Evolution des précurseurs et des composés volatils en fonction de la température de torréfaction (25 mn)...	78
Figure 23 :	Teneur en fructose des nibs en fonction du temps de trempage (solution de supplémentation à 30g/l).....	82
Figure 24 :	Teneur en fructose des nibs en fonction de la concentration de la solution de supplémentation (trempage 10 minutes).....	82
Figure 25 :	Consommation des acides aminés sous forme libre en fonction de la teneur initiale en fructose des échantillons supplémentés.....	84
Figure 26 :	Evolution des rapports DMP-2,5/TMP et DMP-2,5/TrMP en fonction de la teneur en fructose dans les nibs de cacao supplémentés.....	86
Figure 27 :	Teneur en aldéhydes totaux en fonction de la quantité de sucres réducteurs (après torréfaction à 140°C pendant 25 minutes).....	89
Figure 28 :	Teneur en aldéhydes des échantillons supplémentés en sucres réducteurs (fructose et glucose) après torréfaction à 140°C pendant 25 minutes.....	90

Liste des tableaux

	Page
Tableaux 1 : Composition en sucres (g/100g) des fèves de cacao non torréfiées de différentes origines (REINECCIUS et al. 1972).....	14
Tableau 2 : Teneurs en acides aminés sous formes libre (g/100g) dans des fèves fermentées dégraissées de différentes origines (MARAVHALAS 1972).....	15
Tableau 3 : Méthyl pyrazines identifiées dans les produits alimentaires ayant subi un traitement thermique.....	17
Tableau 4 : Origine de la formation des aldéhydes.....	18
TABLEAU 5 : Aldéhydes identifiés dans des produits alimentaires fermentés ayant subi un traitement thermique.....	19
Tableau 6 : Teneur en isovaléraldéhyde de cacao fermentés non torréfiés (en mg/kg) (ZIEGLEDER 1982 b).....	20
Tableau 7 : Teneur en aldéhydes en fonction de la température de torréfaction (mg/kg) (ZIEGLEDER 1982 b).....	20
Tableau 8 : Caractéristiques des enzymes utilisés pour l'hydrolyse des protéines du cacao.....	27
Tableau 9 : Taux de recouvrement (%) des pyrazines en solutions témoins (concentrations 50mg/100ml par pyrazine)...	34
Tableau 10 : Répétabilité de la méthode torréfaction-extraction-dosage des pyrazines du cacao (teneur en mg/kg)....	35
Tableau 11 : Taux de recouvrement (%) des aldéhydes en solutions témoins (concentration 50g/100ml par aldéhyde).....	35
Tableau 12 : Répétabilité de la méthode de torréfaction-extraction-dosage des aldéhydes du cacao (teneur en mg/kg)	36
Tableau 13 : Teneur en sucres (g/100g) pour un même cacao fermenté et non fermenté.....	39
Tableau 14 : Teneur en acides aminés libres et totaux (g/100g) sur un même cacao fermenté et non fermenté.....	40
Tableau 15 : Composés identifiés dans le cacao fermenté et non fermenté torréfié. Moyen d'identification SM-TR.....	42
Tableau 16 : Composition initiale des mélanges synthétiques de précurseurs torréfiés et odeur perçue.....	47
Tableau 17 : Composés identifiés dans les mélanges synthétiques de précurseurs torréfiés (140°C 35mn).	51
Tableau 18 : Teneur en acides aminés libres (g/100g) du cacao torréfié pendant 25 minutes en fonction de la température de chauffage.....	55
Tableau 19 : Teneur en acides aminés libres (g/100g) du cacao torréfié à 140°C en fonction de temps de chauffage.....	55

Tableau 20 :	Teneur en acides aminés totaux (g/100g) du cacao torréfié pendant 25 minutes en fonction de la température de chauffage.....	56
Tableau 21 :	Teneur en acides aminés totaux (g/100g) du cacao torréfié à 140°C en fonction du temps de chauffage.....	57
Tableau 22 :	Teneur en sucres réducteurs (g/100g) du cacao torréfié à 140°C en fonction du temps de chauffage.....	58
Tableau 23 :	Teneur en sucres réducteurs (g/100g) du cacao torréfié 25 minutes en fonction de la température de chauffage...	58
Tableau 24 :	Teneur en (-) épicatechol (g/100g) du cacao et rapports des oligomères de l'épicatechol en fonction de la torréfaction.....	59
Tableau 25 :	Rapport Rt en fonction du temps de torréfaction.....	59
Tableau 26 :	Rapport RT en fonction des températures de torréfaction	59
Tableau 27 :	Teneur en acides aminés sous forme libre du cacao torréfié pendant 15 minutes en fonction de la température....	62
Tableau 28 :	Teneur en acides aminés sous forme libre du cacao torréfié pendant 25 minutes en fonction de la température....	63
Tableau 29 :	Teneur en sucres réducteurs du cacao torréfié en fonction de la température.....	64
Tableau 30 :	Conditions de torréfaction des échantillons de chocolats	65
Tableau 31 :	Moyenne des notes obtenues par les chocolats lors de la dégustation.....	65
Tableau 32 :	Teneur en pyrazines du cacao en fonction des conditions de torréfaction.....	66
Tableau 33 :	Teneur en pyrazines du cacao en fonction de la torréfaction et de l'origine.....	67
Tableau 34 :	Rapports 2,5 DMP/TrMP et 2,5 DMP/TMP en fonction du niveau de torréfaction.....	67
Tableau 35 :	Consommation du fructose et du glucose au cours de la torréfaction (140°C 25 mn) du cacao supplémenté en fructose.....	83
Tableau 36 :	Teneur en méthyl-pyrazines en fonction de la teneur en fructose des échantillons supplémentés après torréfaction à 140°C pendant 25 minutes.....	85
Tableau 37 :	Teneur en aldéhydes en fonction de la concentration et de la nature des sucres réducteurs infiltrés (torréfaction 140°C 25 mn).....	91
Tableau 38 :	Conditions de préparation aux échantillons de cacao pour les essais de protéolyse.....	92

Tableau 39 :	Teneur en acides aminés sous forme libre des échantillons après les essais de protéolyse en utilisant l'activité résiduelle du cacao.....	93
Tableau 40 :	Augmentation de la teneur en acides aminés sous forme libre après incubation de la fraction protéique avec des protéases.....	94
Tableau 41 :	Teneur en acides aminés sous forme libre des extraits protéiques du cacao après traitement avec des protéases (2 heures d'incubation).....	95
Tableau 42 :	Teneur en acides aminés sous forme libre des extraits protéiques du cacao après traitement avec des protéases (6 heures d'incubation).....	96
Tableau 43 :	Teneur en acides aminés sous forme libre (g/100g) des échantillons de cacao traités par les protéases.....	98
Tableau 44 :	Teneur en sucres réducteurs (g/100g) des échantillons de cacao supplémentés.....	99
Tableau 45 :	Teneur en acides aminés sous forme libre (g/100g) des échantillons supplémentés en sucres et en acides aminés	100
Tableau 46 :	Teneur en aldéhydes (mg/kg) des échantillons supplémentés en sucres et en acides aminés.....	101
Tableau 47 :	Résultats des dégustations des échantillons supplémentés en sucres et en acides aminés.....	102

Année : 1989

Nom de l'auteur (prénom) : MERMET Gérard

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC (MONTPELLIER II)

Résumé

L'étude de la consommation des précurseurs d'arôme (sucres réducteurs et acides aminés sous forme libre) d'un cacao ivoirien en fonction des conditions de torréfaction montre que les sucres réducteurs constituent un facteur limitant des réactions de Maillard internes au cacao.

Les tests organoleptiques et l'étude de la consommation en précurseurs d'arôme permettent d'optimiser le potentiel aromatique d'un cacao, et de déterminer des conditions optimales de torréfaction en laboratoire.

Les aldéhydes de Strecker se forment rapidement pendant la torréfaction, et leur teneur présente un maximum à cent vingt degrés. Les pyrazines se forment plus lentement et leur teneur est une fonction croissante de la température. L'évolution des diméthyl pyrazines et de la triméthyl pyrazine est sensible à la température. Ces composés se révèlent être un bon indicateur du niveau de torréfaction.

Cependant la tétraméthyl pyrazine, composé majeur, varie peu en fonction de la température de torréfaction. Ce composé est formé principalement pendant la fermentation du cacao, comme le confirme l'étude en système modèle.

La supplémentation d'un cacao en fructose, entraîne après torréfaction, une modification de la proportion relative des méthyl pyrazines avec une augmentation sensible des diméthyl pyrazines.

L'augmentation de la teneur d'un cacao ivoirien en fructose, glucose, phénylalanine, valine, leucine, accroît après torréfaction, la teneur en aldéhydes de Strecker et de leurs produits de condensation. Cette augmentation de la teneur en précurseurs permet d'obtenir un arôme cacao plus développé.

Mots-clés

Cacao	Aldéhydes
Précurseurs	Tests organoleptiques
Arôme	Composés phénoliques
Pyrazines	