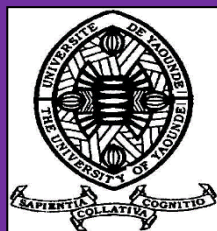


UNIVERSITE DE YAOUNDE I

CENTRE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN
SCIENCES DE LA VIE, SANTE ET
ENVIRONNEMENT

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

CENTRE FOR RESEARCH AND
TRAINING IN GRADUATE STUDIES
IN LIFE, HEALTH AND
ENVIRONMENTAL SCIENCES

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE VEGETALE ET DE BIOCHIMIE, ENS-UY1

LABORATORY OF PLANT PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY, HTTC-UY1

CARACTERISATION GENOTYPIQUE, METABOLOMIQUE ET AROMATIQUE DES
HYBRIDES CONTROLES DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) DU CAMEROUN ET
CHOCOLAT CORRESPONDANT

THESE

Présentée et soutenue en vue de l'obtention du Doctorat/PhD en Biochimie

Option : Biotechnologie et Développement

Spécialité : Génétique, Technologie et Chimie du cacao/chocolat

Par :

AKOA Simon Perrez

Matricule : 08R0022

Master en Biochimie


Co-directeurs :

EFFA ONOMO Pierre
Maître de Conférences

DJOCGOUE Pierre-François
Professeur



Année 2021

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I Faculté des Sciences Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I Faculty of Science Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS		LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

ANNÉE ACADEMIQUE 2021/2022

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 22 septembre 2021

ADMINISTRATION

DOYEN : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maître de Conférences*

VICE-DOYEN / DPSAA : ATCHADE Alex de Théodore, *Maître de Conférences*

VICE-DOYEN / DSSE : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur*

VICE-DOYEN / DRC : ABOSSOLO Monique, *Maître de Conférences*

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Marie C. F., *Maître de Conférences*

Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche DAASR : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (38)

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSCI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
7	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste

9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
11	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12	BELINGA née NDOYE FOE M. C. F.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
13	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Maître de Conférences	En poste
15	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	EWANE Cécile Anne	Maître de Conférences	En poste
17	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	Inspecteur de Service MINESUP
18	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
19	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
20	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
21	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste

22	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste
----	--------------------------	-----------------------	----------

23	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
24	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
25	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
25	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
26	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
27	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
28	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
29	KOTUE KAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
30	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
31	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
32	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
33	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
34	PECHANGO NSANGO Sylvain	Chargé de Cours	En poste

35	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Assistant	En poste
36	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
37	OWONA AYISSI Vincent Brice	Assistant	En poste
38	WILFRIED ANGIE Abia	Assistant	En poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (46)

1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>DAARS/FS</i>
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
6	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>Vice Doyen/FMSB/UYI</i>
7	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
9	KEKEUNOU Sévilor	Professeur	En poste
10	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
11	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
12	NOLA Moïse	Professeur	En poste
13	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
14	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE</i>
15	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	<i>En poste</i>

16	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEG-APTCHÉ	Maître de Conférences	En Poste
19	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste

20	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
21	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
22	NGUEGUIM TSOBACK Florence	Maître de Conférences	En poste
23	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste

24	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
25	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
26	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
27	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
28	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
29	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
30	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
31	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
32	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
33	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
34	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
35	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
36	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
37	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UBA
38	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
39	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
40	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
41	YEDE	Chargé de Cours	En poste

42	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Assistant	En poste
43	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Assistante	En poste
44	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
45	LEME BANOCK Lucie	Assistante	En poste
46	YOUNOUSSA LAME	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (33)

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4	MBOLO Marie	Professeur	En poste
5	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
6	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
7	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

8	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
9	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/ MINESUP
12	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	CE / MINRESI
13	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste

14	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
15	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
16	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste

17	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
18	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
29	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
20	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
21	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
22	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
23	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
24	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste

25	GODSWILL NTSOMBAH NTSEFONG	Assistant	En poste
26	KABELONG BANAHO Louis-Paul-Roger	Assistant	En poste
27	KONO Léon Dieudonné	Assistant	En poste
28	LIBALAH Moses BAKONCK	Assistant	En poste
29	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Assistant	En poste
30	TAEDOUNG Evariste Hermann	Assistant	En poste
31	TEMEGNE NONO Carine	Assistant	En poste
32	MANGA NDJAGA Jude	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (33)

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ.Ngaoundere</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de- Miss.PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
7	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen Univ. Ba- menda</i>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS UDs</i>
10	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>

11	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
12	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
13	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
14	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
15	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
16	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
17	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste
18	NJIOMOU C. épse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste

19	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
20	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste

21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS/ ENS Bertoua
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
23	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
24	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
25	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
26	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
27	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
28	NEBA nee NDOIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	CT/ MINFEM
29	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
30	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste

31	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste
32	PATOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste
33	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En Poste

5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (34)

1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen/FSE/UYI
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDA
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	Chef de Département UDS
4	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
5	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP/</i> Chef de Département
6	WANDJI Jean	Professeur	En poste

7	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	Vice-Doyen / DPSAA
8	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
10	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
11	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
14	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
15	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
16	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
17	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
18	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	Sous/Direct. MINRESI
19	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	C.E/ MINESUP
20	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	C.S/ MINESUP
21	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
22	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
23	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
24	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
25	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste

26	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
27	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste

28	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
29	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
30	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
31	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
32	SIELINOUE TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste

33	MESSI Angélique Nicolas	Assistant	En poste
34	TSEMEUGNE Joseph	Assistant	En poste

6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)

1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div. MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA. MINESUP</i>

3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
---	---------------	-----------------------	----------

4	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
5	AMINOUE Halidou	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
6	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
7	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
8	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
9	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
10	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
11	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
12	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	Directeur adjoint En-set. Ebolowa
14	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
15	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
16	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
17	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste

18	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
19	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
20	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
21	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
22	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	En poste
23	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
25	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (30)

1	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	Chef de Département
2	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	<i>Inspecteur MINESUP</i>

3	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
4	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
7	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
8	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef service des programmes & Diplômes/FS/UYI</i>
9	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
10	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste

11	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLA-MAT
12	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
13	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
14	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
15	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
16	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
17	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
18	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
19	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
20	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
21	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
22	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
23	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargé de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste

26	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
27	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
28	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
29	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
30	TCHEUTIA Daniel Duviol	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (18)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
3	NWAGA Dieudonné M.	Professeur	En poste

4	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
5	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
6	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
7	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste

8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
10	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
11	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
12	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste
13	ESSONO Damien Marie	Assistant	En poste
14	LAMYE Glory MOH	Assistant	En poste
15	MEYIN A EBONG Solange	Assistante	En poste
16	NKOUDOU ZE Nardis	Assistant	En poste
17	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistante	En poste
18	TOBOLBAÏ Richard	Assistant	En poste

9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (40)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
3	EKOBENA FOUA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. UN</i>
4	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
6	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
7	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
8	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
9	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
10	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
11	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
12	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen FS Univ/Bda
13	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
14	WOAFO Paul	Professeur	En poste
15	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste

16	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
----	---------------------	-----------------------	----------------

17	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
18	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Maître de Conférences	En poste
19	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
20	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
22	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
23	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
24	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
25	SAIDOU	Maître de Conférences	MINRESI
26	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
27	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
28	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
29	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UJI</i>

30	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
31	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
32	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
33	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	Chef Cell. MINADER
34	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
35	MELI'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
36	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
37	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
38	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste

39	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Assistant	En poste
40	TEYOU NGOUPPOU Ariel	Assistant	En poste

10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)

1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
4	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
5	NGOS III Simon	Professeur	En poste
6	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
7	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste

8	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
9	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memvé'ele</i>
10	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
11	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
12	GHO GOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/Uma
13	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>

14	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	CEA/MINRESI
15	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
16	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
17	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	<i>Chef service Maintenance & du Matériel/UYII</i>
18	TCHAKOUNTE J. épse NOUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
19	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
21	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
22	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

23	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
24	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
25	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
26	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
27	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
28	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
29	LAMILEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
30	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
31	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
34	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
36	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
37	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargée de Cours	En poste
38	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
39	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
40	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste

41	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
42	MBANGA NYOBE Jules	Assistant	En poste

Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS

DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
-------------	-------------	------------------------	------------------	------------	-------

BCH	8 (01)	14 (10)	13 (05)	4 (02)	39 (18)
BPA	15 (01)	8 (06)	18 (05)	05 (02)	46 (14)
BPV	07 (01)	9 (01)	8 (06)	08 (01)	32 (9)
CI	10 (01)	10 (02)	10 (02)	03 (0)	33 (5)
CO	6 (0)	21 (05)	05 (02)	02 (0)	34(7)
IN	2 (0)	1 (0)	14 (01)	08 (01)	25 (2)
MAT	2 (0)	8 (0)	15 (01)	05 (02)	30 (3)
MIB	3 (0)	4 (02)	05 (01)	06 (02)	18 (5)
PHY	15 (0)	14 (02)	09 (03)	02 (0)	40 (5)
ST	7 (1)	15 (01)	18 (05)	02 (0)	42(7)
Total	75 (5)	104 (29)	115 (31)	45 (10)	339 (75)

Soit un total de **339 (75)** dont :

- Professeurs **75 (5)**
- Maîtres de Conférences **104 (29)**
- Chargés de Cours **115 (31)**
- Assistants **45 (10)**

() = Nombre de Femmes **75**

DEDICACE

A mes parents ATANGANA François et ABENG Bibiane

Trouvez ici, l'expression de ma profonde fierté, de ma reconnaissance de votre amour et des sacrifices immenses consentis durant ces nombreuses années.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier profondément mes encadreurs : DJOCGOUE Pierre François (Professeur) et EFFA ONOMO Pierre (Maître de Conférences) qui ont bien voulu co-encadrer cette thèse. Je vous dis infiniment merci pour la confiance, l'assistance, les encouragements, les remarques constructives et le partage des connaissances autant scientifiques, sociales que professionnelles. Vos différents apports pour l'obtention des bourses auront été d'un soutien sans faille pour la réalisation de ce travail.

Je remercie infiniment le professeur NIEMENAK Nicolas, chef du laboratoire de Physiologie Végétale et de Biochimie du département des Sciences Biologiques de l'Ecole Normale Supérieure de l'Université de Yaoundé 1. Vous avez été pour ce travail le creuset des idées. Votre suivi pour ce travail tant sur le plan national qu'international a été d'un apport indéniable.

Je tiens également ma gratitude et ma profonde reconnaissance au Dr BOULANGER Renaud (Directeur de Recherche) avec qui j'ai achevé la dernière partie de ce travail. Votre laboratoire a été une grande opportunité pour moi en ce qui concerne la collaboration et les perspectives à ce travail. Votre sympathie légendaire et vos conseils ont été un succès.

J'exprime également ma reconnaissance aux organismes qui ont financé ces travaux :

- ✚ L'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) qui, à travers le Collège Doctoral Régional Mathématiques, Informatique, Biosciences et Géosciences de l'Environnement (CDR-MATINBIOGEO) a suivi et financé ce travail durant 3 ans.
- ✚ L'ambassade de France au Cameroun par son Service de Coopération et de l'Action culturelle (SCAC) qui a financé ma mobilité de séjour de recherche pour jeune chercheur au CIRAD de Montpellier (France). Je pense à monsieur SARKIS Jean-Guy et à Mme MUNUAHOK Yolande sans oublier le gestionnaire ARIEL Michel de Campus France. Enfin, grand merci à tous les doctorants africains du Collège Doctoral Régional Mathématiques, Informatique, Biosciences et Géosciences de l'Environnement (CDR-MATINBIOGEO) à travers nos échanges constructifs pour la réalisation de ce travail.
- ✚ A ma mère adoptive NGUELE Lucie et à mes enfants EDJENTE AKOA Léo et ABENG AKOA Mathis Léandre ;

J'aimerais par ailleurs adresser ma connaissance à Mme la professeure ONDOBO Martine Louise épouse ATANGANA. Familièrement appelée Mme ATANGANA, je vous remercie pour les conseils, la contribution aux matériels de recherche et vos connaissances sur

la génétique du cacao. Je suis également reconnaissant au docteur MANGA DJAGA Jude qui m'a appris la technique de pollinisation manuelle et du greffage du cacaoyer. De plus, vos analyses statistiques ont donné une vue généralisée des résultats de cette thèse.

Mes remerciements vont également aux membres du laboratoire de Physiologie Végétale et Biochimie de l'Ecole Normale Supérieure (ENS) notamment :

- ✚ Les docteurs : MEGUEKAM Liliane, FOTSO Beaulys, EYAMO Jos, DJABOU Astride, KACKO Agrippine, DJEUANI Carole, TCHOUATCHEU Audrey, SOUPI Marita, NOAH Alexandre ; BOUTCHOUANG Rodrigue, NTYAM MENDO Arsène.
- ✚ Les camarades : AMADOU Dabo, NEMBOT Robinson, ABEGA Juste, MEWOOU Anice, GODOM Annie, MAKONDY Rolande, ELOCK Gaston, WABO Ivan, MAKOUKAM Kérianne, MANDENG Paul, MESHUNEKE Arouna, DAMSE Erika, KENGOUM Marie-Paule, WASSOM Fabrice, etc...

J'exprime un merci chaleureux à tous les membres de l'Unité Mixte de Recherche UMR QUALISUD 95 du bâtiment B16-CIRAD-campus Agropolis de Montpellier : LEHON Marie Christine (le géant camerounais !), LEBRUN Marc (je suis là pour toi !), LUMLEY, Sophie, SANTIAGO, MOREL Gilles etc....

Je ne peux s'en passer du professeur LENTA Bruno et le laboratoire de Synthèse des Substances Naturelles du Département de Chimie de l'Ecole Normale Supérieure de l'Université de Yaoundé 1. Votre aide pour la chromatographie ultraperformante et la spectrométrie de masse a permis d'identifier les monomères des polyphénols et des méthylxanthines.

Dans la même mouvance, mes remerciements vont à l'endroit de l'Institut de Recherche pour le Développement (IRAD) et précisément de Mme TETMOUN Abéline. Votre sourire toujours jovial et votre présence quotidienne au laboratoire de Technologie Alimentaire dont vous êtes le Chef, a permis la production du chocolat et l'analyse sensorielle y associée.

Je remercie ma famille qui s'est battue mains et pieds liés pour financer mon école: NNA Daniel, ETOA Serge, AYISSI Parfait, ADA Henriette, SOUGA Anicet, ONANA Julien, BILOA Christelle, OWONO Arsène, SAMA Jasmine, ETOA Evariste, OYOA Anne, AYISSI Line, ETOA Marguerite, ETOUNDI Nadège, ETOA Éric, BINDELE Chantal, SAMMA Rodrigue.

Je tiens également à remercier mes amis : MBEZELE Alice, MBEZELE Julie, Dr DJOVA Valdi, MAMGNO DJEMO Carole et ZAMBO Calixte.

Je ne peux finir sans une pensée de ma promotion en doctorat baptisée « LES SPARTIATES ». Je vous rends un vibrant hommage et je vous suis reconnaissant.

Enfin, tous ceux qui de près ou de loin ayant contribué à la réalisation de ce travail et dont les noms ne figurent pas ici, je vous suis totalement reconnaissant.

TABLE DES MATIERES

DEDICACE.....	xi
REMERCIEMENTS.....	xi

TABLE DES MATIERES	xiv
LISTE DES ABREVIATIONS	xix
LISTE DES TABLEAUX	xx
LISTE DES FIGURES.....	xxi
LISTE DES ANNEXES	xxv
RESUME.....	xxvi
ABSTRACT	xxviii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LITTERATURE	4
I.1 Généralités sur le cacao.....	5
I.1.1 Histoire du cacao.....	5
I.1.2 Culture du cacao	5
I.1.3 Diversité et Taxonomie.....	7
I.1.4 Morphologie et Biologie	8
I.1.5 Ecologie et Ecophysiologie.....	9
I.1.6 Variétés de cacao	9
I.1.6.1 <i>Forastero</i>	9
I.1.6.2 <i>Criollo</i>	10
I.1.6.3 <i>Trinitario</i>	10
I.1.7 Importance socio-économique du cacao	11
I.1.7.1. Sur le plan social	11
I.1.7.2. Sur le plan économique.....	13
I.1.8 Contraintes à la cacaoculture	13
I.1.9 Amélioration de la culture du cacao	14
I.1.9.1 Sélection générative	14
I.1.9.2 Sélection clonale	14
I.2 Généralités sur la pollinisation.....	15
I.2.1 Types de pollinisation	16
I.2.1.1 Pollinisation entomophile.	16
I.2.1.2 Pollinisation anémophile.....	16
I.2.1.3 Pollinisation ornithophile.....	16
I.2.1.4 Pollinisation homophile	16
I.2.2 Intérêt des pollinisations manuelles	16
I.3 Généralités sur les molécules bioactives et les précurseurs d'arômes	17
I.3.1 Polyphénols.....	17
I.3.2 Méthylxanthines.....	19

I.3.3 Précurseurs d'arômes	20
I.3.3.1 Acides aminés et Peptides	20
I.3.3.2 Sucres réducteurs	21
I.4 Généralités sur les Arômes	22
I.4.1 Origine	22
I.4.2 Groupes chimiques des composés d'arômes du cacao/chocolat.....	23
I.4.2.1 Alcools	23
I.4.2.2 Esters.....	24
I.4.2.3 Pyrazines	24
I.4.2.4 Acides organiques	25
I.4.2.5 Phénols et Terpénoïdes	25
I.4.4 Description des arômes ou profils sensoriels.....	25
I.5 De la cabosse mature au Chocolat	26
I.5.1 Récolte et Pré-conditionnement	26
I.5.2 Ecabossage et Fermentation.....	27
I.5.3 Séchage	29
I.5.4 Broyage	30
I.5.5 Torréfaction.....	30
I.5.6 Conchage.....	32
I.6 Enjeux actuels du cacao dans le monde	32
I.6.1 Pays producteurs	32
I.6.2 Pays consommateurs	33
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	34
II.1 Matériel.....	35
II.1.2 Chocolats noirs issus des fèves.....	36
II.2 Méthodes	37
II.2.1 Impact de l'origine génétique du pollen	37
II.2.1.1 Pollinisation manuelle	37
II.2.1.2 Récolte et Pré-conditionnement.....	39
II.2.1.3 Fermentation et Séchage.....	39
II.2.1.2 Evaluation des traits agronomiques	40
II.2.1.2.1 Taille et épaisseur moyennes des cabosses par hybride	40
II.2.1.2.2 Nombre moyen de fèves par cabosse et par hybride	40
II.2.1.3 Paramètres physicochimiques des fèves	40
II.2.1.3.1 Test à la coupe (<i>Cut-test</i>).....	40
II.2.1.3.2 Masse des fèves	41

II.2.1.3.3 pH	41
II.2.1.3.4 Indice de fermentation	42
II.2.1.3.4.1 Délipidation	42
II.2.1.3.4.2 Evaluation de l'indice de fermentation.....	43
II.2.2 Composés bioactifs et précurseurs d'arômes.....	44
II.2.2.1 Composés bioactifs des fèves et chocolats	44
II.2.2.1.1 Production du chocolat	44
II.2.2.1.2 Extraction.....	45
II.2.2.1.3 Quantification	46
II.2.2.1.3.1 Dosage des Polyphénols totaux	46
II.2.2.1.3.2 Dosage des flavonoïdes totaux	47
II.2.2.1.3.3 Dosage des Tannins condensés (Proanthocyanidines)	47
II.2.2.1.3.4 Activité des polyphénoloxydases (PPO) des fèves.....	48
II.2.2.1.3.4.1 Extraction des protéines totales	48
II.2.2.1.3.4.2 Evaluation de l'activité enzymatique des PPO.....	49
II.2.2.1.3.5. Tests antioxydants	49
II.2.2.1.3.5.1 Evaluation de l'activité antiradicalaire par le DPPH.....	49
II.2.2.1.3.5.2 Mesure de l'activité antioxydante par la méthode de FRAP (<i>Ferric Reducing/Antioxidant Power</i>)	50
II.2.2.1.3.6 Identification et quantification des composés bioactifs individuels par UPLC-DAD-ESI(+)-MS	50
II.2.2.1.3.7 Caractérisation par spectres ultraviolet (UV) et de masse (MS)	52
II.2.2.2 Précurseurs d'arômes des fèves	52
II.2.2.2.1 Acides aminés.....	52
II.2.2.2.1.1 Extraction des acides aminés	52
II.2.2.2.2.1.2 Analyse par RP-HPLC.....	52
II.2.2.2.2 Sucres réducteurs	53
II.2.2.2.2.1 Extraction.....	53
II.2.2.2.2.2 Analyse des sucres par HPIC.....	54
II.2.3 Analyse sensorielle des chocolats et caractérisation des composés volatils des fèves/chocolats	55
II.2.3.1 Analyse sensorielle des chocolats.....	55
II.2.3.2 Identification et quantification des composés volatils par HS-SPME/GC-MS.....	56
II.2.3.2.1 Extraction des arômes par la méthode HS-SPME (Head Space-Solid Phase Micro-Extraction).....	56
II.2.3.2.2 Analyse GC-MS sur colonne polaire.....	57
II.2.4 Analyses statistiques.....	57

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	59
III.1 Résultats	60
III.1.1 Impact de l'origine génétique du pollen.....	60
III.1.1.1 Compatibilité.....	60
III.1.1.2 Traits agronomiques	61
III.1.1.2.1 Taille et épaisseur moyennes des cabosses par hybride	61
III.1.1.2.2 Nombre moyen de fèves par cabosse de chaque hybride.....	61
III.1.1.3 Analyse physico-chimique des fèves	62
III.1.1.3.1 Variation de la masse des fèves.....	62
III.1.1.3.2 Test à la coupe ou <i>Cut-test</i>	63
III.1.1.3.3 Variation du pH.....	64
III.1.1.3.4 Indice de fermentation.....	65
III.1.2 Diversité biochimique des cacaos et/ou chocolats	66
III.1.2.1 Diversité des composés bioactifs	66
III.1.2.1.1 Composés phénoliques	66
III.1.2.1.2 Flavonoïdes totaux	68
III.1.2.1.3 Tannins condensés ou Proanthocyanidines	68
III.1.2.1.3 Activités enzymatiques polyphénol oxydases (PPO).....	69
III.1.2.1.4 Tests antioxydants avec les chocolats	70
III.1.2.1.4.1 Activité antioxydante	70
III.1.2.1.4.2 Activité antiradicalaire	70
III.1.2.1.2 Détermination des monomères de composés bioactifs (polyphénols et méthylxanthines) dans les fèves et chocolats	71
III.1.2.1.2.2 Identification des monomères de (poly)phénols et de méthylxanthines par les spectres UV et spectres de masse (MS) par échantillon de fèves et de chocolat	75
III.1.2.2 Diversité des précurseurs d'arômes.....	82
III.1.2.2.1 Analyse des aminés libres des fèves.....	82
III.1.2.2.2 Analyse des sucres réducteurs et autres	84
III.1.3 Analyse des arômes et quantification des composés aromatiques volatils	86
III.1.3.1 Analyse sensorielle des chocolats noirs dérivant de chaque hybride.....	86
III.1.3.2 Identification des composés volatils des cacaos et chocolats.....	87
III.2 Discussion	107
III.2.1 Impact de l'origine génétique du pollen.....	107
III.2.1.1 Aptitude à la combinaison.....	107
III.2.1.2 Critères agronomiques.....	108
III.2.1.3 Paramètres physicochimiques	109

III.2.2 Composés bioactifs et précurseurs d'arômes	110
III.2.2.1 Composés bioactifs	110
III.2.2.2 Précurseurs d'arômes	114
III.2.2.3 Profils sensoriels et composés volatils (arômes).....	116
CHAPITRE IV : CONCLUSION ET PERSPECTIVES	120
IV. 1 Conclusion	121
IV. 2 Perspectives.....	122
BIBLIOGRAPHIE	123
ANNEXES.....	143

LISTE DES ABREVIATIONS

ANOVA : Analysis of Variance

APN : Autorité Portuaire Nationale

CIRAD : Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement

DAD: Diode Array Detector

DVB/CAR/PDMS : DiVinylBenzène/Carboxène/PolyDiMéthylSiloxane
EAG: Equivalent Acide Gallique
ESI: ElectroSpray Ionization
FT: Flavonoïdes totaux
GC: Gas Chromatography
HPIC: High Performance Ion Chromatography
HS: HeadSpace
ICCO: International Cocoa Organization
ICS : Imperial College Selection
IRAD : Institut de Recherche Agricole pour le Développement
MS : Mass Spectrometry
MSD : Masse Sèche Délipidée
P: *Phytophthora*
PAD: Photodiode Array Detector
PAL : Phénylalanine Ammonia-Lyase
PPO : Polyphénol Oxydase
PPT: Polyphénols totaux
RP-HPLC: Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography
SCA : Scavina
SNK : Sélection de Nkoemvone
SPME: Solid Phase MicroExtraction
SPSS: Statistical Package for Social Sciences
T: Tafo
UPA: Upper Amazon
UPLC: Ultra Performance Liquid Chromatography

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : principales maladies du cacaoyer (Akrofi <i>et al.</i> , 2003 ; Ploetz, 2007).....	14
Tableau II : croisements effectués entre clones de cacaoyers	35
Tableau III : descripteurs d'arômes de chocolats retenus, score et échelle de notation.....	56
Tableau IV : résultats de 300 pollinisations manuelles durant les années 2017 et 2018.....	60
Tableau V : longueurs et épaisseurs moyennes des cabosses par hybride.....	61
Tableau VI : variation du nombre moyen de fèves par cabosse hybride.....	62
Tableau VII : valeurs moyennes des indices de fermentation	65
Tableau VIII : corrélation entre paramètres agronomiques et physicochimiques.....	66

Tableau IX: pourcentages de polyphénols dans chaque géotype	67
Tableau X: standards de méthylxanthines et (poly)phénols utilisées pour identification et quantification en UPLC-DAD-ESI(+)-MS	72
Tableau XI: teneurs moyennes de quelques molécules de polyphénols identifiées (mg/g) ...	82
Tableau XII: teneurs moyennes (mg/g) en théobromine, caféine et rapport théobromine/caféine (fèves)	82
Tableau XIII: teneurs moyennes en alcaloïdes, flavan-3-ols et acides phénoliques (chocolats)	82
Tableau XIV: teneur moyenne des acides aminés libres dans différents géotypes (mg/g) ..	83
Tableau XV: pourcentage de chaque groupe d'acides aminés/échantillon.	84
Tableau XVI : variations de la teneur en sucres réducteurs et autres (g/100g) dans les fèves fermentées/séchées par hybride.....	84
Tableau XVII: composés volatils identifiés dans les fèves fermentées/séchées de cacao groupés par note d'arôme.	94
Tableau XVIII: composés volatils identifiés dans les différents chocolats noirs	100

LISTE DES FIGURES

Figure 1: répartition géographique de la culture du cacaoyer dans le monde	6
Figure 2: zones de production du cacao au Cameroun.	7
Figure 3: tige avec cabosses du clone SNK16 (<i>Trinitario</i>) au champ 6, Mengang.....	9
Figure 4: mécanisme de la pollinisation (A) et de la fécondation (B) chez les plantes à fleurs.....	15
Figure 5: voies de biosynthèses des composés phénoliques.	18
Figure 6: biosynthèse des méthylxanthines chez les plantes	20
Figure 7: hydrolyse du saccharose par l'invertase avec libération des principaux sucres réducteurs..	22

Figure 8: quelques structures de base des composés hétérocycliques du chocolat : (a) pyrazine, (b) furanne, (c) thiazole et (d) oxazole.....	23
Figure 9: entassement des cabosses (A), processus d'écabossage (B) et de fermentation (C).....	27
Figure 10: principaux précurseurs d'arômes produits au cours de la fermentation des fèves et leur diffusion moléculaire.....	29
Figure 11: mécanisme des réactions de Maillard	31
Figure 12: mécanisme de dégradation de Strecker.....	31
Figure 13: quelques fèves de cacao frais (A et B), fermenté/séché (C) et torréfié (D)	36
Figure 14: quelques chocolats produits. A : SNK16×T60/888 ; B : ICS40×UPA134.....	36
Figure 15: étapes de la pollinisation manuelle en champ.....	38
Figure 16: quelques hybrides obtenus par pollinisation manuelle.	38
Figure 17: cabosses de cacao mures en pré-conditionnement.....	39
Figure 18: fèves fermentées après 2 jours (A) et séchées après 3 jours au soleil (B)	40
Figure 19: aspect de quelques fèves après un test à la coupe. A :(ICS40×SCA12) et B :(SNK10×IMC67).....	41
Figure 20: protocole illustratif de l'évaluation du pH.....	42
Figure 21: Protocole de délipidation de la poudre de cacao.....	43
Figure 22: protocole d'évaluation de l'indice de fermentation	44
Figure 23: degré d'intensité des pigments de chaque hybride après traitements post-récoltes (A) et filtration en (B).....	44
Figure 24: production du chocolat par hybride.	45
Figure 25: protocole d'extraction des polyphénols totaux.	46
Figure 26: extraits bruts de polyphénols totaux	46
Figure 27: protocole des dosage des tannins condensés.....	48
Figure 28: tubes à HPLC (Vials) (A) contenant des extraits bruts de polyphénols des fèves ou standards et dispositif UPLC-DAD-ESI-MS TOF (B).....	51
Figure 29: tubes à HPLC (Vials) (A) contenant des extraits solubles d'acides aminés et appareil de HPLC (B) pour analyse des extraits ou standards	53
Figure 30: protocole d'extraction des Sucres	54
Figure 31: extraits de sucres. (A) extraits de sucres dans les tubes eppendorf et extraits des sucres dans vials (B).....	54
Figure 32: tubes (vials) hermétiquement fermés contenant les poudres des différentes matrices (A) et dispositif SH-SPME-GC-MS pour l'extraction et analyse des composés volatils (B).....	57
Figure 33: masses moyennes de fèves à l'état frais et à l'état sec par échantillons. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey).....	62
Figure 34: pourcentage de différentes couleurs des fèves chez les hybrides de parent femelle <i>Trinitario</i>	63

Figure 35: pourcentages de couleurs du cut-test chez les hybrides de parents femelles <i>Forastero</i> et cacaos marchands	64
Figure 36: variation du pH après traitements post-récoltes en fonction des échantillons. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey)..	64
Figure 37: teneur moyenne des polyphénols en fonction des échantillons. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey).	67
Figure 38: variation des polyphénols en fonction de la masse des fèves des différents hybrides	67
Figure 39:: teneur moyenne des flavonoïdes totaux en fonction des génotypes. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey).	68
Figure 40: teneur moyenne des proanthocyanidines en fonction des hybrides. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey).	69
Figure 41: activité des polyphénoloxydases chez les fèves de cacao des six échantillons. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey)..	69
Figure 42: activité réductrice du fer par échantillon de chocolat.	70
Figure 43: évaluation de l'activité anti-radicalaire des chocolats par le test au DPPH.	71
Figure 44: chromatogramme des standards : 1-catéchine ; 2-théobromine ; 3-caféine ; 4-épicatéchine ; 5-acide caféique ; 6-quercétine ; 7-acide férulique ; 8-acide chlorogénique	72
Figure 45: chromatogrammes des échantillons de fèves chez les <i>Trinitario</i> × <i>Forastero</i>	73
Figure 46: chromatogrammes des échantillons de fèves l'hybride SCA12×ICS40 et du cacao marchand	74
Figure 47: chromatogrammes des échantillons de fèves et chocolats issus de l'hybride SCA12×ICS40 et du cacao marchand	74
Figure 48: chromatogrammes des échantillons de chocolats chez les <i>Trinitario</i> × <i>Forastero</i>	75
Figure 49: identification de l'épicatéchine chez les hybrides SNK16×T60/887 et SNK10×IMC67 ...	77
Figure 50: identification de la théobromine chez les hybrides ICS40×UPA134 et SCA12×ICS40 ...	78
Figure 51: identification de l'acide férulique chez le cacao marchand et l'hybride SCA12×ICS40 ...	79
Figure 52: identification de la caféine dans l'extrait des hybride ICS40×SCA12 et SNK16×T60/88780	
Figure 53: autres composés identifiés et spécifiques à certains cacaos. A (procyanidine C1) et B (acide salicylique-3-O-glucoside/galactoside)	81
Figure 54 : analyse en composantes principales des métabolites d'intérêt des fèves fermentées/séchées des six cacaos.	85
Figure 55: classification hiérarchique ascendante des hybrides basée sur les teneurs de métabolites.	85
Figure 56 : profils sensoriels (arômes) obtenus après dégustation du chocolat par le panel d'experts.	86
Figure 57: chromatogrammes obtenus par analyse des composés aromatiques volatils des fèves des hybrides ICS40×UPA134 (A) et SNK16×T60/887 (B) par HS-SPME-GC-MS	90
Figure 58 : chromatogrammes obtenus par analyse des composés aromatiques volatils du cacao marchand (torréfié A) et de l'hybride SCA12×ICS40 (torréfié B) par HS-SPME-GC-MS.....	91

Figure 59 : chromatogrammes obtenus par analyse des composés aromatiques volatils du chocolat des hybrides SNK10×IMC67 (A) et ICS40×SCA12 (B) par HS-SPME-GC-MS.....	92
Figure 60: quelques spectres de masse (MS) des composés ayant discriminé les notes de cacao. A (note "fruité"), B (note "floral"), C (note "chocolat/noisette") et D (note "crème/beurre").	93
Figure 61: analyse en composantes principales entre les composés volatils obtenus chez les six différents génotypes des fèves fermentées/séchées.	97
Figure 62: analyse en composantes principales entre les composés volatils obtenus dans les différents chocolats noirs en barettes.....	103
Figure 63: variation du 2-heptanol (composé discriminant de la note "fruité") des fèves fermentées/séchées au chocolat noir. Les valeurs suivies de la même lettre au sein de chaque matrice ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey).	104
Figure 64: variation du linalool (composé discriminant de la note "floral") des fèves fermentées/séchées au chocolat noir. Les valeurs suivies de la même lettre au sein de chaque matrice ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey).	105
Figure 65: variation de la 2,3,5,6-tétraméthylpyrazine (composé discriminant de la note "chocolat/noisette") des fèves fermentées/séchées au chocolat noir. Les valeurs suivies de la même lettre au sein de chaque matrice ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey).	106
Figure 66: variation de l'acétoïne (composé discriminant de la note " beurre/crème ") des fèves fermentées/séchées au chocolat noir. Les valeurs suivies de la même lettre au sein de chaque matrice ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey).	106

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : structures des principales anthocyanes du cacao	144
Annexe 2 : caractéristiques des deux zones d'étude.....	144
Annexe 3: courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage les polyphénols totaux..	145
Annexe 4 : droite d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes	145
Annexe 5: droite d'étalonnage de la catéchine pour dosage des proanthocyanidines.....	145
Annexe 6: activité réductrice du fer	146
Annexe 7: valeurs semi-quantitatives des composés aromatiques chez les fèves torréfiées.	146

RÉSUMÉ

Parmi les cacaos qui décrivent les arômes recherchés par les consommateurs et les industriels, se trouvent les Trinitario et surtout les Criollo. Les Forastero, à quelques exceptions, constituent des cacaos classiques. Au Cameroun, il existe plusieurs clones de cacao Trinitario. A date, aucune étude n'a décrit une corrélation entre les hybrides, les métabolites qui influencent la qualité des fèves et les profils sensoriels sans oublier les arômes volatils chez les Trinitario du Cameroun. Ce travail avait donc pour objectif général de caractériser les génotypes issus des meilleurs croisements impliquants les Trinitario du Cameroun, les métabolites durant le process fève-chocolat et les arômes qui décrivent les notes subtiles de chaque hybride. La détermination des génotypes s'est faite par pollinisation manuelle à partir des clones répertoriés et disponibles. La sélection des clones, au total 10 retenus, était faite sur la base de leur susceptibilité à l'agent pathogène *Phytophthora megakarya*. Des paramètres agronomiques (nombre de fèves, épaisseur du cortex, masse moyenne de fèves, longueur de la cabosse) et physicochimiques (Cut-test, pH et Indice de Fermentation ou IF) ont été évalués. Les polyphénols totaux libres, les flavonoïdes, les proanthocyanidines, les activités antiradicalaire et antioxydante ainsi que les activités polyphénol oxydases ou PPO ont été déterminés par spectrophotométrie. Les acides aminés, les monomères de composés bioactifs (polyphénols et méthylxanthines) puis les sucres ont été estimés par RP-HPLC-PAD, UPLC-DAD-ESI-MS TOF et HPIC-ED respectivement. Le profil sensoriel des chocolats a été obtenu par suite de l'analyse sensorielle effectuée par un panel de 12 experts et les arômes volatils des fèves et chocolats ont été analysés puis semi-quantifiés par HS-SPME-GC-MS. Le niveau de compatibilité entre les cacaos dépend grandement de l'origine génétique du pollen dans les conditions environnementales favorables (pluviométrie, température, sol, etc...). La compatibilité entre les Trinitario pour produire des hybrides parfaits est faible voire nulle. En revanche, les croisements entre Trinitario et Forastero sont à promouvoir. Les paramètres agronomiques sont fortement influencés par l'origine génétique du pollen et dans une moindre mesure certains paramètres physicochimiques comme le pH. Les paramètres physicochimiques décrivent non seulement les traitements post-récoltes mais également ceux industriels. Les métabolites secondaires (méthylxanthines et polyphénols) sont génotypes-dépendants et fortement influencés par les traitements post-récoltes et industriels. La teneur en polyphénols libres est positivement corrélée avec l'activité antioxydante, antiradicalaire et la masse de fèves mais cette teneur est négativement corrélée avec l'activité polyphénol oxydase. Des fortes variations ont été observées chez les monomères de composés phénoliques et des méthylxanthines. L'ordre quasi global chez tous les génotypes a été le suivant : théobromine > (-)-épicatéchine > caféine > acide férulique > acide chlorogénique > procyanidine C1. Les analyses sensorielles ont relevé 13 descripteurs parmi lesquels les attributs fruité, floral, épicé et chocolat. Les composés volatils d'intérêt ont été détectés, à différentes teneurs, dans les fèves et leur chocolat noir correspondant. Les composés tels que le linalool (arôme floral/rose), le myrcène (arôme épicé/moût) et la trans-bêta-ocimène (arôme floral/végétal) décrivent la note "floral" de certains hybrides (SCA12×ICS40). De plus, l'acétate de 3-méthylbutyle (ou isoamyl acétate) et le 2-heptanol décrivent les arômes banane et crème de la note "fruité" respectivement chez les hybrides ICS40 et SNK. La 2,3,5,6-tétraméthylpyrazine (arôme chocolat/cacao), le benzaldéhyde (arôme amande/sucrée) et la 2,3,5-triméthylpyrazine (arôme cacao/noisette) sont des composés caractéristiques de la note "chocolat/noisette". Enfin, le 3-hydroxybutan-2-one (arôme beurre/lait caillé) et la 2,3-butanedione (arômes beurre) décrivent la note "crème/beurre" des hybrides ICS40. Ces résultats indiquent que les hybrides de cacao utilisés ont des similitudes avec les "cacaos fins" si les traitements post-récoltes sont bien menés et leur promotion auprès des cacaoculteurs est à encourager.

Mots clés : cacao, hybride, grains de pollen, métabolites, arômes, notes subtiles

ABSTRACT

Among cocoas which present fine or flavor aroma, Trinitario and mainly Criollo are the needed. Forastero cocoas, in their majority, are classified as bulk cocoa. In Cameroon, there are many clones of Trinitario cocoas whose metabolites and mainly aroma volatile compounds have not been really described. This work aimed to characterize genotypes with Trinitario clones, metabolites which influence cocoa aroma and volatile aroma compounds.

hybrid pods were obtained by hand-pollination from available clones numbered. Ten clones were selected according to their susceptibility to *Phytophthora megakarya* (black pod disease pathogen). Agronomic parameters (number of beans, pod cortex thickness, pod length) and physicochemical (pH, Cut-test, fermentation index) were assessed. Total polyphenol, flavonoids, condensed tannins, antiradical, and antioxidant and polyphenol oxidase activities were determined by spectrophotometry. Free amino acids, monomeric units of bioactive compounds and sugars were determined by RP-HPLC-PAD, UPLC-DAD-ESI-MS TOF and HPIC-ED respectively. Sensory profile of dark chocolate bar of each hybrid and volatile aroma compound of fermented/dried and roasted beans and chocolate bars were analyzed and semi-quantified by HS-SPME-GC-MS.

The general ability combination between cocoa clones depends on the pollen genetic origin. Results showed that compatibility between Trinitario cocoa is less successful. Meanwhile, crosses between Trinitario and Forastero are to be encouraged. Agronomic parameters of cocoa hybrids are subjected to pollen genetic origin and the pH describes the genetic group of cocoa clones. Physicochemical parameters supply information's about postharvest practices and thermal conditions of chocolate production. Secondary metabolites (polyphenols and purine alkaloids) are genotype-dependent and are influenced by postharvest practices and thermal processes. Total polyphenol, flavonoid, and condensed tannin contents are positively correlated to antioxidant and antiradical capacities. Inversely, the polyphenol content is negatively correlated to polyphenol oxidase activity. Important variations of monomeric units of polyphenol and purine alkaloids were observed. The general order of compound content was showed as followed: theobromine > (-)-epicatechin > caffeine > ferulic acid > chlorogenic acid > procyanidin C1. The sensory analysis according to the experimented panelists revealed 13 descriptors of aroma among which: fruity, floral, spicy, chocolate. Specific aroma volatile compounds which describe flavour notes of fine cocoa, were determined by HS-SPME-GC-MS. Compounds like linalool (fruity), myrcene (spicy), trans-beta-ocimene (grassy) describe the "floral" note of some hybrids (SCA12×ICS40). Indeed, 3-methylbutyl acetate (isoamyl acetate) and 2-heptanol with the banana and creamy aroma respectively describe "fruity" note of ICS40 and SNK hybrids. 2,3,5,6-tetramethylpyrazine (chocolate/cocoa), benzaldehyde (almond/cherry) and the 2,3,5-trimethylpyrazine (cocoa/nutty) are main aroma compounds for "chocolate/nutty" note. At the end, 3-hydroxybutan-2-one (milked) and 2,3-butanedione (buttery) describe the "creamy/buttery" note of ICS40 hybrids.

These results highlighted that with respect to postharvest treatments, cocoa hybrids used in this study show similarities with fine cocoa and may be popularized to farmers.

Keywords: cocoa, hybrid, pollen grains, metabolites, specific aroma, flavor notes

INTRODUCTION

Le cacaoyer est une plante cultivée dans les forêts tropicales et subtropicales d’Afrique, d’Amérique, d’Asie et d’Océanie. Ses fruits (cabosses) sont remplis de graines (fèves) et ces dernières sont appelées cacao à l’état commercial. Il est cultivé majoritairement pour ses fèves, matières premières de certains produits agroalimentaires dont le chocolat, aliment pouvant atteindre un label de luxe. Ces fèves sont également utilisées dans les industries pharmaceutiques et cosmétiques. Depuis 2010, plus de 4 millions de tonnes sont produites chaque année dans le monde dont plus de 70% par le continent africain. La Côte d’Ivoire, premier producteur mondial, est suivie par le Ghana, l’Indonésie, l’Equateur, le Cameroun, le Brésil et le Nigéria (ICCO, 2019).

Selon l’Agence Belge de Développement « Trade for Development Centre », le cacao constitue le troisième marché alimentaire mondial avec un montant annuel des échanges estimés à environ 100 milliards de dollars. La demande de cacao et de ses produits dérivés a progressé au cours des dernières années à la faveur de l’émergence d’une classe moyenne dans plusieurs pays d’Asie, d’Amérique Latine, d’Europe de l’Est et même d’Afrique. Selon les statistiques de l’Organisation Internationale du Cacao (ICCO), la demande, approximée par les quantités broyées, est passée de 3,2 millions de tonnes en 2004 à plus de 4,7 millions de tonnes en 2019 (ICCO, 2019). Pour répondre à cette demande mondiale sans cesse croissante, le développement de la culture du cacao a pris de l’ampleur, notamment en Asie, après l’Afrique où elle est fortement ancrée. Les perspectives de la filière cacao demeurent d’autant plus favorables que la demande effective et la demande potentielle sont appelées à croître, eu égard de profondes mutations en cours, notamment la montée en puissance de la classe moyenne partout dans les pays en développement, y compris ceux d’Afrique.

Le Cameroun se classe au 5^e rang mondial des pays producteurs avec plus de 250.000 tonnes de fèves récoltées en 2019 (ICCO, 2019). Le cacaoyer est cultivé par environ 260.000 petits planteurs et fait vivre plus d’un million d’habitants de la zone forestière (Ploetz, 2007). Le cacao constitue le 3^e produit d’exportation du Cameroun après le bois et la banane, produits pétroliers exclus (Autorité Portuaire Nationale, 2020). Huit sur dix régions sont favorables à cette culture : il s’agit de l’Adamaoua, du Centre, de l’Est, du Littoral, du Nord-Ouest, de l’Ouest, du Sud et du Sud-Ouest. Les stratégies mises en place par les autorités camerounaises pour promouvoir la marque Cameroun consistent à optimiser la récolte, à sécuri-

ser les revenus des producteurs, à multiplier les plants, à minimiser les intrants chimiques et assurer la bonne qualité des fèves.

Trois grands groupes de cacao sont connus en fonction de leur origine géographique, de leur productivité, du caractère tolérant aux maladies et des caractéristiques morphologiques : les *Criollo* (originaires du Mexique, peu productifs, sensibles aux maladies et cabosses douces), les *Forastero* (originaires de la forêt amazonienne, très productifs, tolérants aux maladies et cabosses dures) et les *Trinitario* (originaires de l'île de Trinité, caractères intermédiaires de deux premiers dont ils sont leurs hybrides) (Motamayor, 2008).

Une autre classification basée sur les caractéristiques organoleptiques et surtout la finesse de l'arôme, divise les cacaos en deux groupes : (1) les cacaos classiques ou « bulk cocoa » caractérisés par des arômes durs (dont les *Forastero* représentant plus de 80% de la production mondiale) ; (2) les cacaos fins caractérisés par des arômes spécifiques et doux recherchés par les consommateurs (*Criollo* et certains *Trinitario* représentant environ 17% du tonnage mondial). Les cacaos fins se vendent 2 à 3 fois plus cher comparés aux cacaos classiques (Donnovan, 2006) car l'arôme constitue la caractéristique la plus importante pour la qualité du cacao/chocolat (Dimick and Hoskin, 1999 ; Owusu *et al.*, 2012). A l'heure actuelle, les teneurs en cacao croissent de plus en plus dans les produits agroalimentaires compte tenu de la pléthore d'études qui témoignent des effets bénéfiques du cacao sur la santé.

En ce qui concerne les composés volatils qui décrivent les arômes du cacao/chocolat, plus de 600 composés ont été isolés et identifiés dans le chocolat (Aprotosoie *et al.*, 2016 ; Ziegleder, 2009 ; Ramli *et al.*, 2006). Si nombre d'entre eux sont issus de la réaction de Maillard (Owusu *et al.*, 2012 ; Afoakwa *et al.*, 2008, Ramli *et al.*, 2006) d'autres proviennent de la variété des fèves mieux du génotype (Kadow *et al.*, 2013, Boulanger *et al.*, 2010), de leur origine (Niemenak *et al.*, 2006 ; Counet *et al.*, 2006), du traitement post-récolte principalement la fermentation (Crafack *et al.*, 2014). Les teneurs en polyphénols (Norr-Soffalina *et al.*, 2009), en acides aminés (Adeyeye *et al.*, 2010), en protéines (Afoakwa *et al.*, 2008) et en sucres réducteurs (Ho *et al.*, 2014) ont été corrélées au développement des arômes lors de la torréfaction du cacao marchand.

Compte tenu de l'importance des arômes sur le marché du cacao, les recherches sur des cacaos fins vont grandissantes. Au Cameroun, le cacao fin serait représenté par quelques *Trinitario* (SNK et ICS), les *Criollo* étant rares. Cependant, plusieurs problèmes entravent la production et la côte du cacao camerounais à l'international, parmi ces problèmes :

- la difficulté de produire un cacao particulier due à l'incompatibilité entre clones et à la cohabitation multi-variétale en champ ;

- la non maîtrise ou le non-respect des traitements post-récoltes (fermentation et séchage) par les paysans;
- la rareté ou l'indisponibilité des travaux sur les profils sensoriels et spécificités aromatiques des cacaos du Cameroun.

A la suite des problèmes relevés au niveau de la qualité du cacao camerounais, il nous est nécessaire de savoir quels sont les métabolites d'intérêt et les arômes spécifiques des variétés du Cameroun ?

La question de recherche sus-évoquée nous a permis de fixer les hypothèses suivantes :

- ❖ L'aptitude à la combinaison varie en fonction de l'origine génétique du pollen ;
- ❖ Les composés bioactifs et les précurseurs d'arômes discriminent les hybrides ;
- ❖ Certains hybrides présentent des cacaos/chocolats aux notes subtiles.

Afin de vérifier ces hypothèses, nous nous sommes fixés pour objectif général de caractériser les génotypes issus des croisements prometteurs, les métabolites de la qualité répertoriés au cours du processus fève-chocolat ainsi que les arômes qui décrivent les notes subtiles de chaque hybride.

De manière plus détaillée, il s'est agi de :

1. évaluer successivement l'aptitude générale à la combinaison des clones de cacaoyer *Trinitario* et *Forastaro* puis les paramètres agronomiques et physico-chimiques des fèves des hybrides produits ;
2. analyser les composés bioactifs (polyphénols et méthylxanthines) et les précurseurs d'arômes (acides aminés et sucres réducteurs) en relation avec la qualité aromatique de chaque cacao et son chocolat noir correspondant ;
3. déterminer le profil sensoriel et les composés volatils du cacao de chaque hybride et de son chocolat noir.

CHAPITRE I : REVUE
DE LITTÉRATURE

I.1 Généralités sur le cacao

I.1.1 Histoire du cacao

Le cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) est une plante à fleur pérenne de la famille des Malvaceae (Bartley, 2005). Un grand nombre d'auteurs s'accordent sur son origine de l'Amérique centrale et des bassins de l'Amazonie (Chessman, 1994 ; Motamayor, 2002). Les origines et l'étymologie du cacaoyer remontent à environ 3000 ans dans les forêts d'Amérique centrale et d'Amazonie (Coe and Coe, 2013). Les Mayas et les Olmèques lui vouaient un véritable culte, et en sont les premiers à le domestiquer au 16^{ème} siècle (Eskes et Lanaud, 1997). Ils fabriquaient aussi une boisson reconstituante, fortifiante et prétendue aphrodisiaque à partir des fèves qu'ils faisaient griller puis concassaient sur des pierres plates : le « cacahuaquchtli » à l'origine du mot cacao ; « cac » chez les Mayas signifie rouge en référence à la couleur du fruit et « cau » employé pour la force, le feu (Henderson et Coll, 2007). Les Aztèques vouaient une vénération identique à celle des Mayas pour le cacao duquel ils tiraient une boisson aromatique : le « xocoalt » : à l'origine du chocolat actuel. Le cacao a donc hérité son nom scientifique d'une part de son origine Maya : *Theobroma* du latin « Theo » qui signifie dieu et « broma », nourriture soit *Theobroma* : nourriture des dieux.

Dans toute la Mésoamérique durant la civilisation précolombienne, les fèves de cacao étaient souvent utilisées comme monnaie d'échange (communication personnelle) pour faire du troc, payer des impôts et acheter des esclaves et ce, dès 1000 ans avant Jésus Christ. Par exemple les Aztèques utilisaient un système dans lequel une dinde coûtait cent fèves de cacao et un avocat frais trois fèves (communication personnelle).

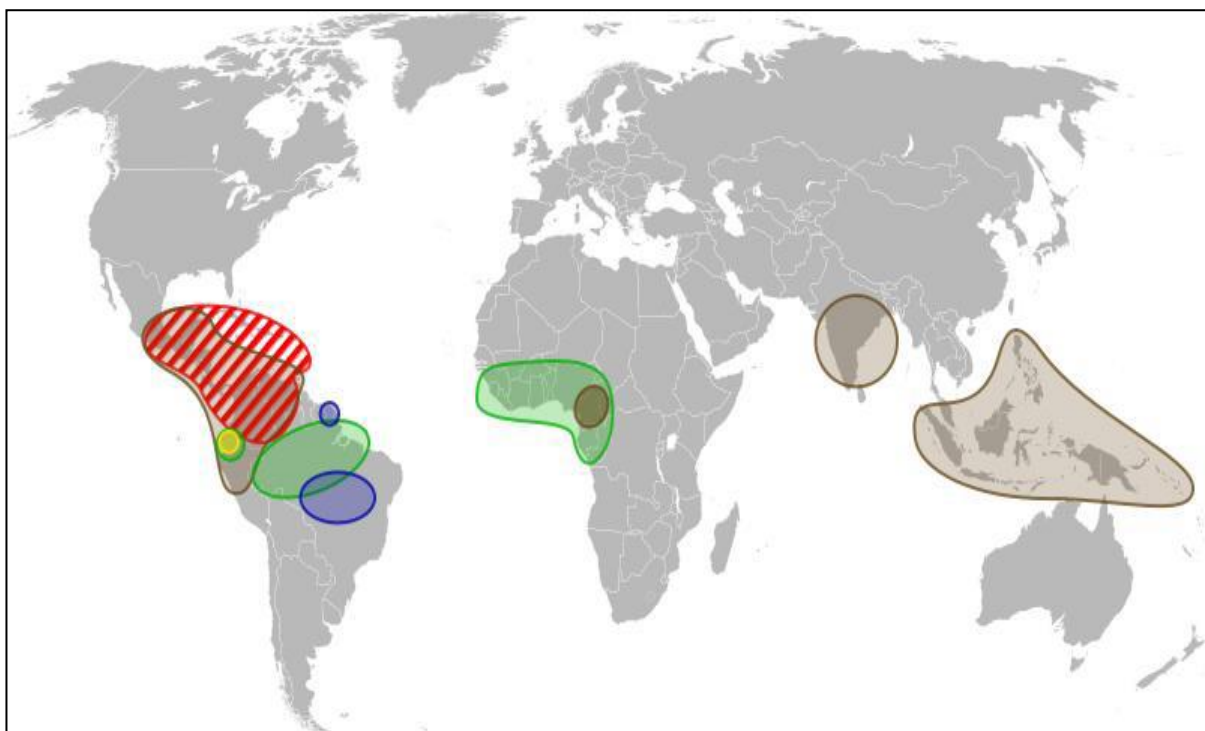
Le cacao arrive en Europe par Cortez en 1524. Puis les Espagnols encouragent sa culture dans les Caraïbes et en Amérique. Hollandais, Anglais et Français le répandent dans leurs colonies entre le 17^{ème} et le 18^{ème} siècle et de nouvelles plantations naissent au Brésil, au Sud-Est asiatique et dans les îles du Golfe de Guinée en Afrique. C'est à partir des îles Fernando Pô actuel Malabo, Sao tomé et Príncipe, que le cacaoyer est introduit vers le 18^{ème} siècle, sur le continent Africain (Braudeau, 1969). Au Cameroun, il ne s'implante que dans les dernières années du 19^{ème} siècle. Les premières cabosses furent importées en 1892 (Assoumou, 1977) et les premières plantations sont créées sur les pentes du mont Cameroun.

I.1.2 Culture du cacao

Pris dans son milieu naturel, le cacao s'adapte mieux au niveau des forêts tropicales humides à peu près 20° de latitude de part et d'autre de l'équateur. Par ce fait, le cacaoyer peut être considéré comme une plante équatoriale (plante tropicale et subtropicale). Pour la réussite

optimale de sa culture, le cacaoyer préfère généralement les altitudes de moins de 600 mètres car difficilement il supporte les températures de moins de 15°C (Piget, 2006). Le cacaoyer nécessite des précipitations moyennement constantes et minimales de 1500 à 2000 mm par an (Badrie et *al.*,2014) et généralement, pousse sur des sols meubles riches en potassium, azote et oligoéléments (Wood et Lass, 2001). Trois grands principaux bassins de culture du cacao sont rencontrés à travers le monde : le bassin du Golfe de Guinée (Côte d’ivoire, Ghana, Nigéria, Cameroun, etc.), le bassin d’Amérique du Sud, Amérique centrale et les Caraïbes (Brésil, Equateur, Pérou, etc.) et le bassin d’Asie du Sud et Océanie (Malaisie, Indonésie, Papouasie, Nouvelle guinée, etc.), avec une dispersion variétale globale (Fig. 1).

Au Cameroun, la cacaoculture se pratique principalement dans la partie forestière et on rencontre des bassins de forte production, d’autres de moyenne production et ceux de production marginale (Fig. 2). Ces bassins de production se rencontrent dans 5 voire 6 régions de Cameroun. Le bassin de forte production regroupe les régions du Sud-Ouest, du Centre et du Sud ; le bassin de moyenne production regroupe les régions du l’Est et du Littoral et enfin le bassin de production marginale regroupe les régions du Nord-Ouest et de L’Ouest (Fig. 2).



Criollos
 Trinitarios
 Forasteros
 Cupuaçu
 Nacional

Figure 1: répartition géographique de la culture du cacaoyer dans le monde (www.worldcocoafoundation.org)

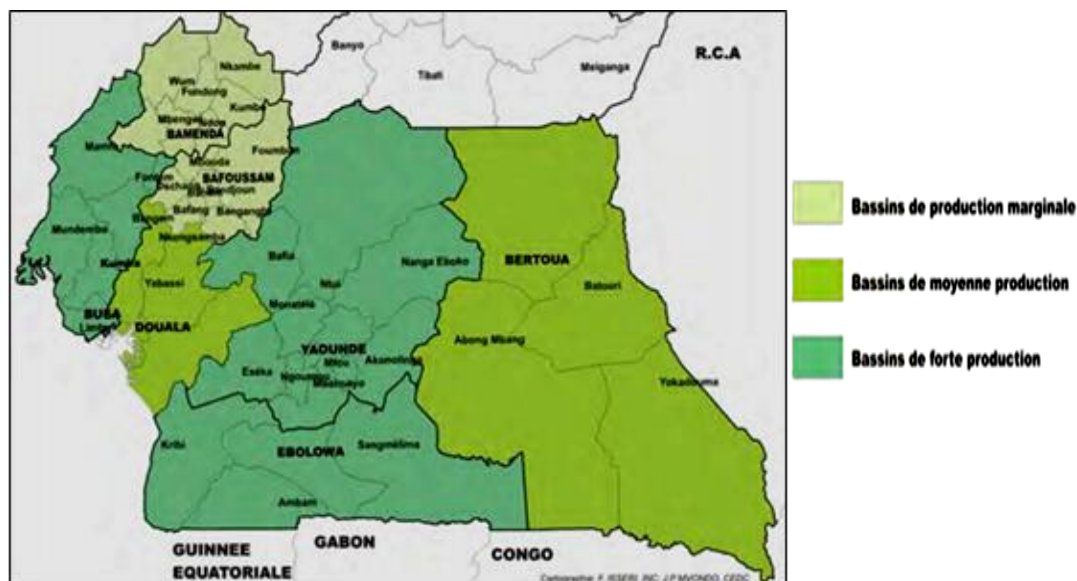


Figure 2: bassins de production du cacao au Cameroun (www.oncc.cm).

I.1.3 Diversité et Taxonomie

Espèce diploïde ($2n = 20$) qui présente une très grande diversité, le génome du cacaoyer a une taille de 430 Mb (Argout *et al.*, 2011) et est entièrement à ce jour totalement séquencé. La diversité génétique du cacao à l'état sauvage n'est pas convenablement représentée dans les exploitations domestiques (Anonyme 1, 1981 ; Badrie *et al.*, 2014). Deux principaux groupes de l'espèce *T. cacao* sont établis selon l'analyse morpho-géographiques de Chessman (1944) à savoir le *Criollo* et le *Forastero* auxquels s'ajoutent le *Trinitario*, hybride naturel entre les deux premiers et des essences telles que le *Nacional* et le *Capuaçu*. Les travaux de Motamayor (2008) utilisant la caractérisation des microsatellites de l'ADN des cacaoyers, ont montré une classification des cacaoyers en dix variétés. Cette classification est basée sur l'analyse de 1241 accessions, couvrant un large échantillonnage géographique traité par 106 marqueurs microsatellites et permet de recenser dix groupes : *Marañon*, *Curaray*, *Criollo*, *Iquitos*, *Nanay*, *Contamana*, *Amelonado*, *Purús*, *Nacional* et *Guiana*. Ces groupes dérivent de l'éclatement du type *Forastero* en huit types génétiquement distincts, dont l'*amelonado* qui était déjà préalablement identifié ; *le Nacional* et le *Criollo*. L'étude a exclu les *Trinitario*.

Le cacaoyer est une plante cormophyte dont la classification classique est la suivante (Chessman, 1944) :

Règne : plantae

Division : magnoliophyta

Classe : magnoliopsida

Ordre : malvales

Famille : Sterculiaceae

Genre : *Theobroma*

Espèce : *Theobroma cacao*.

Selon la classification phylogénétique (Whilock *et al.*, 2001) :

- Ordre : Malvales, et
- Famille : Malvaceae

Le genre *Theobroma* est divisé en six sections *Andropetalum*, *Glossopetalum*, *Oreanthes*, *Rhytidocarpus*, *Telmatocarpus* et *Theobroma*. Cette division basée sur les caractéristiques morphologiques (Cuatrecasas, 1964) est confirmée par des données moléculaires (Borrone *et al.*, 2007).

I.1.4 Morphologie et Biologie

Le cacaoyer comporte des feuilles persistantes, simples, entières, bordeaux à l'état jeune qui deviennent vertes à l'état mature. Les fleurs sont régulières, pentamères et formées de cinq sépales, cinq pétales, cinq étamines alternant avec cinq staminodes stériles. De la forme d'un ballon de rugby, le fruit de ce cacaoyer a la particularité de se développer sur les branches maitresses de l'arbre, mais aussi sur son tronc : un phénomène appelé cauliflorie. La cabosse est un fruit d'une quinzaine de centimètres dont la couleur peut varier du blanc au rouge en passant par le vert ou le jaune selon les espèces et le degré de maturité. Elle est le résultat d'une pollinisation majoritairement entomophile d'au plus 1% des fleurs toutes hermaphrodites. Cette cabosse est une baie dont les graines (fèves) souvent employées comme semence, sont recouvertes d'une gaine mucilagineuse et disposée en cinq ou six rangées (Mossu, 1990). La multiplication végétative se fait par bouturage et par greffage des branches orthotropes et plagiotropes.

Theobroma cacao (Fig. 3) est une plante aux fleurs hermaphrodites présentant un ovaire qui contient 30 à 60 ovules. Cependant, la plupart des cacaoyers sont auto-incompatibles lui attribuant ainsi le nom de plante allogame. Il fleurit à partir de 3 ans et atteint son plein rendement 6 à 7 ans après plantation.



Figure 3: tige avec cabosses du clone SNK16 (*Trinitario*) au champ 6, Mengang (cliché AKOA, 2021).

I.1.5 Ecologie et Ecophysiologie

Le cacaoyer nécessite beaucoup d'humidité à l'état naturel bien que l'on, par des contraintes foncières défavorables aux conditions naturelles, puisse également pratiquer l'irrigation. L'humidité de l'air doit être supérieure à 90%. Pour un bon développement, la plante a besoin d'un sol aéré et profond (1,5 m minimum) de texture sablo-argileuse ayant une grande capacité de rétention d'eau, et un pH compris entre 6 et 7 (Wood et Lass, 1985). La pluviométrie annuelle doit être comprise entre 1500 et 2500 mm et la répartition uniforme des pluies, avec une saison sèche ne dépassant pas 3 mois. La croissance optimale de l'arbre exige également un ombrage provisoire indispensable pendant les premières années de culture, une température comprise entre 24 et 28°C, une atmosphère humide et enfin une hygrométrie constante et élevée.

I.1.6 Variétés de cacao

On distingue trois grandes variétés de cacao. Le cacao de consommation *Forastero* et les cacaos nobles *Criollo* et *Trinitario*.

I.1.6.1 *Forastero*

Ce cacao est considéré comme l'ancêtre de toutes les variétés de cacao. Sa robustesse garantit de très forts rendements. Il représente aujourd'hui plus de 80 % de la production

mondiale. Le *Forastero* se caractérise par son très fort goût cacao, peu aromatique et légèrement amer ou aigre. Il comporte deux sous-groupes : *amelonado* et *amazon*, qui ne présentent pas de différences chimiques significatives entre les fèves (Tomlins *et al.*, 1993). Il produit des staminodes pigmentés de couleur violette, des cabosses arrondies et lisses de couleur verte qui à maturité deviennent jaune et parfois rouge, un péricarpe épais et un mésocarpe fortement lignifié avec des fèves aplaties de couleur violette (Soupi, 2013). Les *amazon* sont majoritairement cultivés en Afrique de l'Ouest (excepté le Cameroun) et au Brésil. Le *Forastero* se caractérise par un fort pourcentage d'hybridation intragroupe et est très sollicité dans les travaux d'hybridation du cacaoyer.

I.1.6.2 Criollo

Le *Criollo* est considéré comme le plus raffiné des cacaos nobles. Peu acide, très faiblement amer, il possède, en plus d'un goût de cacao très doux, des arômes secondaires prononcés qui rappellent les noix, le caramel, les myrtilles ou le tabac. La plante *Criollo* étant dépendante des champignons et des parasites, son rendement est moindre et ses fruits par conséquent plus précieux. C'est le groupe majoritairement cultivé en Amérique centrale (Saltini *et al.*, 2013). Ce groupe comprend des variétés produisant des staminodes de couleur rose pâle, des cabosses de couleur verte ou violette et de forme variable s'approchant le plus souvent du *cundeamor* (allongée, pointues à l'extrémité inférieure et leur surface est rugueuse) qui à maturité deviennent rouges ou rouge-oranges. Une coupe des cotylédons des fèves dodues et rondes montre une coloration blanche ou rosâtre du fait de l'absence ou la faible concentration en anthocyanes (Badrie *et al.*, 2014).

I.1.6.3 Trinitario

Les *Trinitario* associent les bonnes qualités de résistance du cacao aux agréables qualités gustatives du cacao noble. Le cacao *Trinitario* présente un goût de cacao puissant et riche en arôme et une très légère acidité. Le *Trinitario* dérive de Trinidad et est issu de l'hybridation entre le groupe *Criollo* et le sous-groupe *Amelonado Forastero* (Rolando *et al.*, 2013). Il est majoritairement cultivé en Amérique centrale, Colombie, Nouvelle-Guinée, Papouasie et le Cameroun (Aprotosiae *et al.*, 2016). Les cultivars de *Trinitario*, portent en général le nom des organismes ou centres de recherche où ils ont été sélectionnés : ICS (Imperial College Selection, Trinidad), UF (United Fruit, Costa Rica), SNK (Sélection Nkoemvone, Cameroun) etc... (Mossou, 1990).

I.1.7 Importance socio-économique du cacao

Une fève de cacaoyer contiendrait 15 à 20 % de polyphénols d'après les travaux de Wollgast et Anklam (2000) puis Niemenak *et al.* (2006). Le cacao est également source de beaucoup d'autres métabolites donc principalement les acides gras (surtout triglycérides) et les alcaloïdes.

I.1.7.1. Sur le plan social

Le cacao trouve de plus en plus son utilisation aujourd'hui dans la société. Il est important en pharmacologie, en agroalimentaire, en bioénergie et en cosmétique/diététique.

a) Cacao et pharmacologie

Les effets bénéfiques du cacaoyer sont liés aux métabolites secondaires et surtout les composés phénoliques dont le cacaoyer est l'une des plantes les plus accumulatrices (Counet and Sonia, 2003 ; Counet *et al.*, 2006).

Déjà au XVIII^e siècle, les apothicaires utilisaient principalement le cacao pour faire passer le goût amer des pilules mais aussi comme remède ou chocolat de santé. Le chocolat est prescrit contre la migraine, la fièvre, dans les cas de gastrite, de diarrhée, de choléra ou encore purgatif ou pour éliminer les calculs rénaux... Il existe même un chocolat homéopathique (Gilet, 2006). En 1749, Carl Von Linné, dans *Materia medica*, définit ses propriétés : *pinguis, subamare, nutriens, aphrodisiaca* (gras, amer, nourrissant, aphrodisiaque). Beaucoup d'autres auteurs de l'époque ont mentionné l'utilisation médicale du cacao ou du chocolat.

Aujourd'hui encore, les investigations pharmacologiques du cacao montrent des effets positifs sur la prévention et le traitement de beaucoup de maladies. Ainsi, la consommation ou la solution de cacao a montré des effets prouvés sur le système cardiovasculaire et circulatoire (Beckett, 2008), sur le système nerveux et neurologique (Pate *et al.*, 2008 ; Field *et al.*, 2011), sur le système endocrinien (Jalil *et al.*, 2008 ; Almoosawi *et al.*, 2010), sur la santé dentaire (Ferrazzano *et al.*, 2009), sur le système lymphatique et immunologique (Addai, 2010 ; Tzounis *et al.*, 2011), sur le système dermatologique (Danby, 2005 ; Melnik, 2009), sur le système respiratoire (Yasuda *et al.*, 2008) et sur le système reproductif (Bisson *et al.*, 2006 ; Bisson *et al.*, 2008 ; Melnyk et Marcone, 2011). Nous présentons ci-dessous le mode d'action du cacao dans quelques-uns de ces systèmes :

- **Effet sur le système cardiovasculaire et circulatoire**

La voie de la lipoxigénase est une voie métabolique qui, chez les animaux, mène à la formation des composés impliqués dans le processus inflammatoire ou encore processus de cancérisation. La cyclooxygénase quant à elle catalyse l'oxydation de l'acide arachidonique

en prostaglandines dans l'organisme. Les flavonoïdes sont présents dans les fèves de cacao. Les effets de la quercétine et de la myricétine sont dose-dépendants. A de fortes concentrations, ils inhibent la cyclooxygénase et la lipoxygénase. Cependant, à de faibles concentrations, seule la lipoxygénase est affectée. En revanche, d'autres flavonoïdes tels que l'apigénine et la chrysin agissent principalement sur l'activité de la cyclooxygénase.

- **Effet sur le système lymphatique et immunologique**

Les flavonoïdes à longue chaîne (Tannins) et à courte chaîne ont montré une augmentation maximale de l'expression des marqueurs de lymphocytes B (LB) que sont CD69 et CD83. Cependant, les flavonoïdes à longue chaîne en particulier ont été responsables de l'augmentation de la synthèse des lipopolysaccharides (LPS) induits que sont IL-1 β , IL-6, IL-10 et TNF- α (Kenny *et al.*, 2007).

- **Effet sur le cancer**

Présente dans tous les groupes de cacao et de thé, la catéchine a montré une activité antitumorale (Bracke *et al.*, 1991). Une telle activité est attribuée à la capacité de ce flavonoïde à inactiver l'action de la P-glycoprotéine qui est impliquée dans la résistance phénotypique des cellules cancéreuses (Bracke *et al.*, 1991). La croissance cellulaire peut être inhibée également par d'autres mécanismes, à savoir : la stabilisation du collagène, l'altération de l'expression des gènes et la réduction des radicaux libres (Landolfi *et al.*, 1984). En effet, la catéchine augmente la résistance du collagène et inhibe l'activité de la collagénase (Makimura *et al.*, 1993 ; Di Carlo *et al.*, 1999). Seuls ou combinés au phytostérol, les polyphénols du cacao ont montré un effet inhibiteur sur l'évolution des cellules cancéreuses de la prostate chez les hommes (Jourdain *et al.*, 2006).

b) Cacao et agroalimentaire

Le cacao constitue un ingrédient majeur dans la fabrication du chocolat sur toutes ses formes. Plusieurs millions de tonnes de chocolats sont produites chaque année au monde (Statistics & Facts on Chocolate Consumption and Industry). D'autres produits comme le beurre de cacao, le jus, la gelée, le whisky et l'huile de cacao sont aussi produits à partir du cacao. Dans la communauté villageoise des régions productrices du cacao, les débris de cabosses sont utilisés pour l'humification du sol et le jus de la fermentation des fèves pour la production de l'alcool.

c) Cacao et bioénergie

Depuis une décennie les pays comme l'Inde, le Bangladesh et surtout l'Allemagne produisent de l'énergie à partir des débris de cacao. La société allemande "Internationales Biogas

und Bioenergie Kompetenzzentrum" produit des milliers de mètres cube de biogaz par les débris de cacao (Communication personnelle). Ils produisent par fermentation du CO₂ qui fournit de l'énergie électrique ou calorifique.

d) Cacao et cosmétique/diététique

Les graisses, les protéines et les antioxydants du cacao (les flavonoïdes et le tocophérol) lui confèrent des propriétés hydratantes et émollientes. Du fait de ces propriétés, le beurre de cacao est utilisé dans les sticks pour les lèvres. Aujourd'hui de nombreuses marques sortent des gammes entières des soins du corps et du visage dans lesquelles le cacao est le principe actif : par exemple, Origins®, une crème hydratante, un exfoliant, un baume de massage et un savon 100% végétal (Steinberg *et al.*, 2003), et le laboratoire Nuxe® a sorti une gamme de trois produits antirides, Phytochoc®. Le cacao est aussi présent dans les gels anticellulite comme Celluli-choc®, à base de caféine et de théobromine (Wollgast et Anklam, 2000).

I.1.7.2. Sur le plan économique

Le cacao est, selon l'Agence Belge de Développement « Trade for Development Centre », à l'origine du troisième marché alimentaire mondial, avec un montant annuel estimé à plus de 100 milliards de dollars US des échanges. La demande de cacao et de ses produits dérivés a progressé au cours des dernières années. Selon les statistiques de l'Organisation Internationale du Cacao (ICCO), la demande, approximée par les quantités broyées, est passée de 3,2 millions de tonnes en 2004 à près de 5,0 millions de tonnes en 2019.

Le Cameroun occupe le 5^e rang mondial après la Côte d'Ivoire, le Ghana et l'Indonésie et l'Equateur (ICCO, 2020). Le pays produit alors plus de 200 mille tonnes depuis 2010. Depuis 2019, le cacao occupe la deuxième place des produits exportés par le pays après le bois (Autorité Portuaire Nationale, 2020).

I.1.8 Contraintes à la cacaoculture

Quel que soit la zone de production du cacao, la cacaoculture fait face à de nombreuses contraintes de production. Outre les problèmes économiques liés au faible rendement des variétés cultivées, les contraintes majeures qui minent la culture du cacao sont de deux types : d'une part les attaques parasitaires et d'autre part les rongeurs. Concernant les attaques phytosanitaires, elles sont assez spécifiques des zones de culture et les symptômes dépendent de la nature de l'agent pathogène (Tableau I). Les attaques d'insectes sur le cacaoyer contribuent largement à la baisse de rendement des vergers. Les plus fréquentes sont les piqueurs, en particulier les **mirides** (*Salbergella sp.*, *Distanella sp.* et *Helopeltis sp.*), les **psylles** (*Tyora tessmanii*) et les **chenilles défoliatrices** (Lachenaud, 1991). *Conopomorpha cramerella* est un

insecte foreur des cabosses (Wielgoss *et al.*, 2012). Les pentatomes, les cicadelles et les thrips sont également des insectes nuisibles du cacaoyer. Les cochenilles sont des vecteurs de virus de l'œdème de pousse. Les larves des pyralidés s'attaquent aux cabosses. Les plantes parasites, sont responsables de la baisse de la production des cacaoyers (Eskes et Lanaud, 1997). Les écureuils comptent également parmi les rongeurs redoutables des cabosses du cacaoyer.

Tableau I: principales maladies du cacaoyer (Akrofi *et al.*, 2003 ; Ploetz, 2007)

Maladie	Agent pathogène	Région	Pertes	Dégâts	Moyens de lutte
Pourriture brune des cabosses	<i>Phytophthora megakarya</i>	Afrique	80%	Pertes de rendement	Lutte chimique Méthodes culturales Matériel partiellement résistant
	<i>Phytophthora palmivora</i>	Afrique Amérique latine Asie du Sud-est	30%		
	<i>Phytophthora capsici</i>	Amérique latine Asie du Sud-est	10%		
« Swollen shoot »	Cacao Swollen Shoot Virus	Afrique de l'Ouest (Togo, Ghana, Nigeria)	25 à 50%	Mort des arbres	Arrachage des plants infectés
Balai de sorcière	<i>Moniliophthora perniciosa</i>	Amérique latine		Arbres improductifs	Elimination des tissus infectés
Moniliose	<i>Moniliophthora roreri</i>	Amérique latine	40 à 90%	Perte de rendements	Récolte sanitaire Lutte chimique
Vascular Streak Disease	<i>Oncobasidium theobromae</i>	Asie du Sud-est		Mort des arbres	Quarantaine Méthodes culturales

I.1.9 Amélioration de la culture du cacao

Outre les moyens de lutte contre les maladies auxquelles fait face le cacaoyer (Tableau I), on assiste aujourd'hui à deux catégories de sélection pour améliorer la cacaoculture.

I.1.9.1 Sélection générative

Entre clones compatibles et surtout génétiquement différents, les hybrides issus présentent souvent une hétérosis positive. Ces descendants sont en général plus précoces, plus productifs et plus tolérants aux maladies. Ils peuvent être diffusés comme semence auprès des cacaoculteurs (Omokolo *et al.*, 1996 ; Djocgoué, 2006). Une autre manière simple et rapide de produire des hybrides est de créer des champs biclonaux.

I.1.9.2 Sélection clonale

Malgré le coût élevé de la multiplication des clones jugés productifs par bouturage ou greffage, la sélection végétative, cependant présente un intérêt fort concluant car elle améliore significativement les rendements des vergers (Wood *et al.*, 1985). Cette sélection permet de

protéger les lignées pures ou sauvages de cacaoyer non seulement pour les banques génomiques mais également pour améliorer et sauvegarder la qualité des cacaos.

I.2 Généralités sur la pollinisation

La pollinisation est le transport du grain de pollen depuis l'anthere jusqu'au stigmate. Une fois sur celui-ci, les grains de pollen germent et chacun d'eux produit un long tube qui, passant par le style, pénètre dans l'ovaire ; à ce moment les noyaux mâles s'unissent à des noyaux de l'ovule. Cette fusion permet la transformation de l'ovule en graine et de l'ovaire en

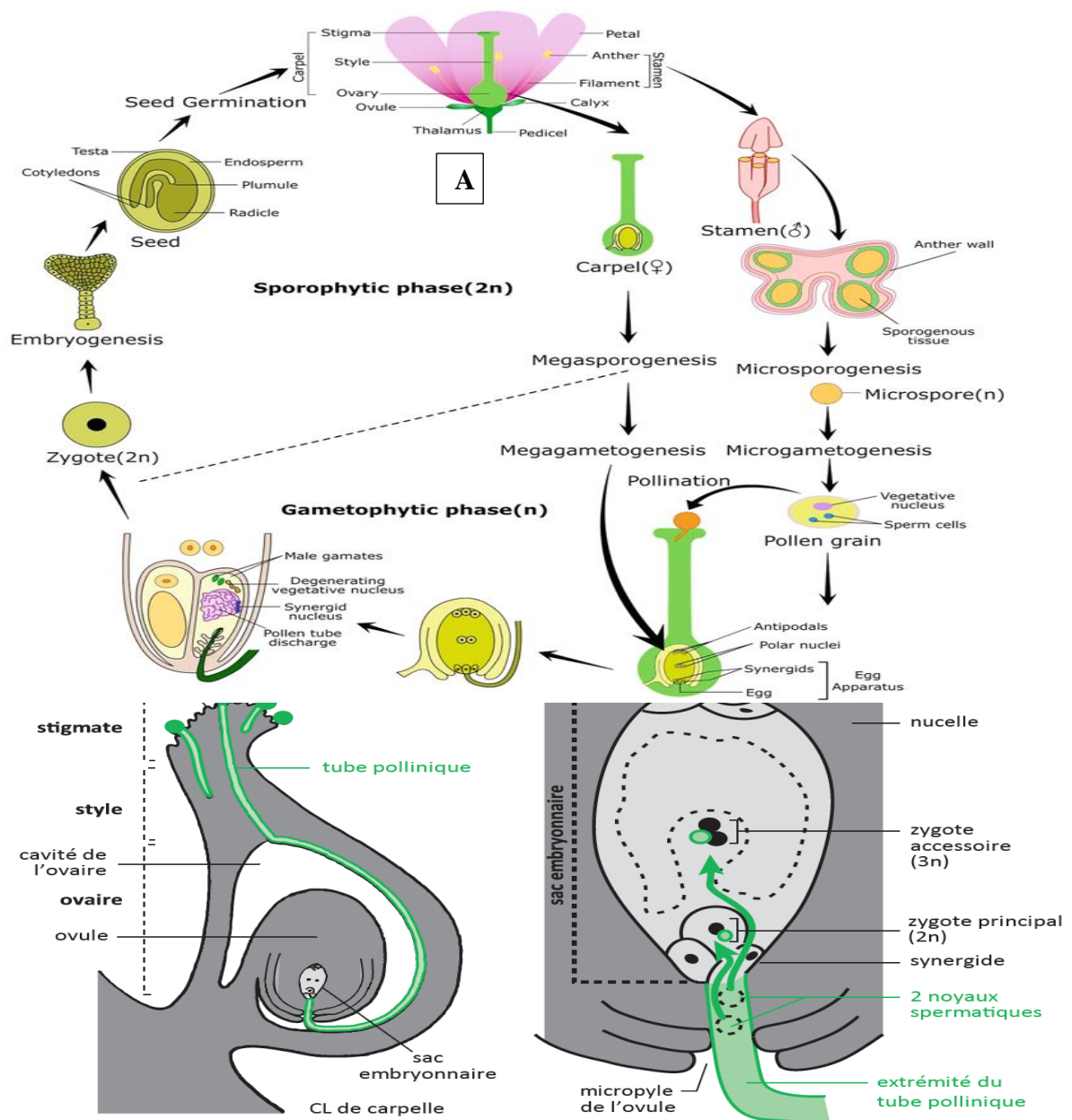


Figure 4: mécanisme de la pollinisation (A) et de la fécondation (B) chez les plantes à fleurs (vincent.chassany@univ-paris-diderot.fr et kaegebeincourtyard.com)

I.2.1 Types de pollinisation

Selon les plantes, certaines fleurs peuvent être qualifiées d'hermaphrodites parce que disposant à leur sein des organes reproducteurs mâles et femelles. D'autres, cependant sont des fleurs mâles ou des fleurs femelles. Que la fleur soit hermaphrodite ou non, les types de pollinisation restent classiquement identiques. On distingue :

I.2.1.1 Pollinisation entomophile.

Il s'agit d'une pollinisation assurée par les insectes. Ces derniers, en rotant autour des extrémités des sacs polliniques, transportent les grains de pollen jusqu'au stigmate. Parmi les insectes, l'ordre des coléoptères (scarabées, coccinelles, cantharides...), des diptères (mouches, syrphes...), des lépidoptères (papillons) et des hyménoptères (abeilles, bourdons, guêpes...) participe à la pollinisation des plantes (Anonyme 2).

I.2.1.2 Pollinisation anémophile

On estime à l'heure actuelle qu'environ 10 % des plantes sont anémophiles. Leurs fleurs sont souvent petites et discrètes, sans parfum ni nectar, avec des grains de pollen très petits et très volatiles, souvent allergisants. Certaines de ces fleurs sont dites « ambophiles » c'est-à-dire qu'elles sont pollinisées par le vent et par les insectes (Anonyme 2).

I.2.1.3 Pollinisation ornithophile

Ce sont généralement des oiseaux à long bec comme le colibri. Les fleurs sont souvent rouges ou roses, couleurs très bien perçues par les oiseaux. Elles disposent de corolles étroites et longues adaptées aux becs des oiseaux qui pratiquent un vol stationnaire pour prélever le nectar. Les plantes concernées sont surtout des plantes tropicales et subtropicales (Anonyme 2).

I.2.1.4 Pollinisation homophile

Les humains sont aussi vecteurs de la pollinisation des fleurs. Souvent de manière non contrôlée, ils arrivent à transporter et déposer les grains de pollen d'une fleur à l'autre. Ce type de pollinisation s'effectue généralement chez les plantes à fleurs dont les fruits sont consommés par les hommes à l'instar du cacaoyer, caféier, etc... ou alors en horticulture (Anonyme 2).

I.2.2 Intérêt des pollinisations manuelles

Darwin dans les années 1859, soulignait déjà que le mélange de caractères héréditaires favorise l'adaptation de l'espèce, autrement dit la sélection naturelle. Le brassage et le réar-

rangement des gènes qui se font lors de la confrontation des deux patrimoines héréditaires au cours de la fécondation sont éminemment favorables à la diversification des organismes et à la création de lignées nouvelles. Pratiquement la pollinisation croisée se solde par l'obtention des fruits de forme régulière et de taille normale, de graines de pouvoir germinatif plus élevé, et de descendants plus productifs et vigoureux. La pollinisation manuelle offre donc l'avantage de pouvoir identifier non seulement le parent femelle, généralement porteur du fruit, mais aussi et surtout le parent mâle, source du (des) grain (s) de pollen. La technique de pollinisation manuelle est développée depuis un certain temps chez le cacaoyer pour permettre la sélection des génotypes avec un caractère spécifique donné (Omokolo *et al.*, 1996).

I.3 Généralités sur les molécules bioactives et les précurseurs d'arômes

I.3.1 Polyphénols

Présents dans toutes les variétés déjà étudiées de cacao, les polyphénols représenteraient 12-18% de la masse d'une fève sèche de cacao, ce qui fait du cacao une source très riche en polyphénols au même titre que le thé ou la vigne (Wollgast et Anklam, 2000 ; Niemak *et al.*, 2006 ; Kraemer *et al.*, 2015). Les polyphénols sont un groupe de composés complexe présents dans les fruits, le thé et bien d'autres végétaux. La voie de l'acide shikimique est beaucoup associée à la synthèse des polyphénols des fruits et légumes (Fig. 5). Les teneurs et la composition en polyphénols varient fortement en fonction du génotype, de l'origine, du degré de maturité et des traitements post-récoltes (Rusconi et Conti, 2010 ; Kothe *et al.*, 2013). Généralement le cacao frais serait plus riche en polyphénols que le cacao marchand. Dans la fève de cacao, les polyphénols ne sont pas distribués de façon homogène. Ils sont incrustés dans des cellules généralement appelées cellules polyphénoliques qui sont elles-mêmes une sorte de cellules parenchymateuses retrouvées dans le cotylédon. On associe à moitié l'astringence et l'amertume du cacao aux polyphénols présents dans la fève. Trois grands groupes de polyphénols sont majoritairement présents dans la fève de cacao. Il s'agit de la catéchine (Flavan-3-ol), des anthocyanes et des proanthocyanidines. Khan et Nicod (2012) ont montré que les monomères des polyphénols représentent les 5-10% des polyphénols totaux. Cependant les polymères représenteraient plus de 90%. Les catéchines, les anthocyanes et les proanthocyanidines représentent respectivement 37, 4 et 58% des polyphénols totaux de la fève. La (-) -épicatéchine, à elle seule, représente 35% des polyphénols totaux. D'autres flavan-3-ols sont retrouvés en plus petites quantités : (+) -catéchine, (+) -gallo-catéchine et (-) -épigalocatéchine (Wollgast et Anklam, 2000 ; Elwers *et al.*, 2009 ; Collin *et al.*, 2011). Les proanthocyanidines contenues dans les fèves de cacao sont représentées par les dimères, trimères ou alors oligomères de flavan-3,4-diols liés par les liaisons 4-6 ou 4-8 (Na-

zarrudin *et al.*, 2006 ; Biehl et Ziegler 2003a). Bien que les dimères et les hexamères soient prédominants parmi les proanthocyanidines, il a été retrouvé des oligomères allant jusqu'à 18 unités (Jolic *et al.*, 2011). Les plus importantes des proanthocyanidines regroupent les dimères B1 - B5, trimère C1 et tétramère D (Andujar *et al.*, 2012).

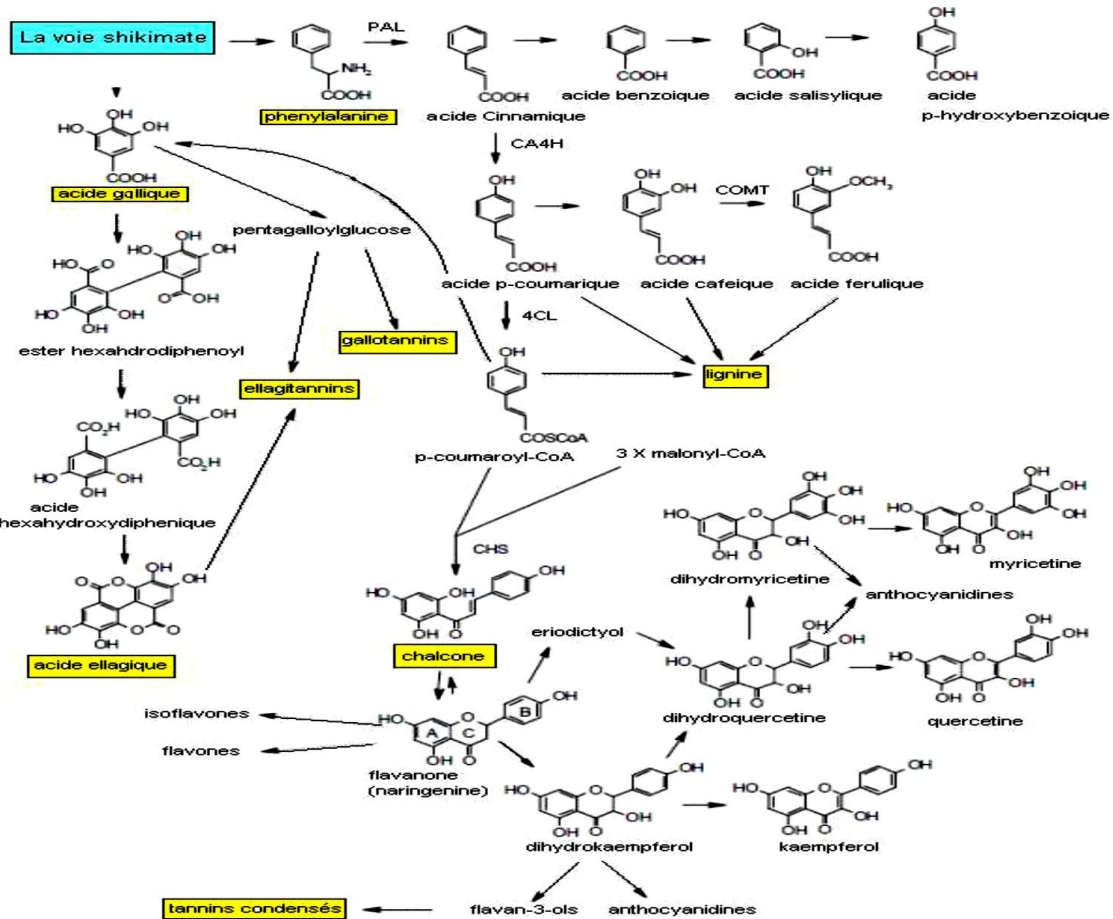


Figure 5: voies de biosynthèses des composés phénoliques (Mohammedi, 2013).

Les anthocyanes du cacao (structures à l'annexe 1) sont principalement la cyanidine-3- α -arabinoside et la cyanidine-3- β -galactoside (Wollgast et Anklam, 2000 ; Afoakwa *et al.*, 2008 ; Eyamo *et al.*, 2016). Elwers *et al.* (2009) auraient également détecté des rutinosides de cyanidine dans des fèves non fermentées. La cyanidine-3-O-glucoside a également été rapportée (De Taeye *et al.*, 2017). La cyanidine sous forme libre est absente de la graine de cacao (De Taeye *et al.*, 2016). Des glycosides de flavonols ont été identifiés dans le cacao et les produits qui en dérivent. Il s'agit essentiellement de la quercétine liée à différents pentoses ou hexoses en position 3 : arabinose, glucose, galactose (Wollgast et Anklam, 2000 ; Collin *et al.*, 2011 ; Pereira-Caro *et al.*, 2013). Par ailleurs, Pereira-Caro *et al.* (2013) ont identifié le kampférol-3-O-rutinoside dans des graines de *Trinitario*. D'autres polyphénols identifiés dans le cacao comprennent notamment acides phénoliques (acides caféique, chlorogénique, coumarique, férulique et syringique) (Rusconi et Conti, 2010). Les anthocyanines confèrent la cou-

leur rouge aux cotylédons des *Forastero* et beaucoup d'autres *Trinitario*. Cependant cette coloration est absente chez le *Criollo*. En revanche, les *Criollo* contiennent plus de procyanidines que les *Forastero* et les *Trinitario*. Les traitements post-récoltes et thermiques peuvent réduire d'environ 90 % la teneur en polyphénols de la fève fraîche au chocolat. Durant ces processus, les polyphénols subissent de profondes réactions biochimiques qui seront importantes dans le développement de la flaveur et surtout de la couleur. L'élévation de la température lors de la fermentation entraîne la rupture des membranes cellulaires favorisant ainsi la sortie des polyphénols depuis leur parenchyme. Cette sortie va entraîner l'hydrolyse des flavonoïdes glycosylés, à la conversion des anthocyanes en bases semi-colorées, à l'oligomérisation non-enzymatique des catéchines et au transfert aux formes plus complexes des proanthocyanidines (Biehl et Ziegler, 2003a).

I.3.2 Méthylxanthines.

Les alcaloïdes du cacao sont des molécules psycho-pharmacologiquement actives. Entre autres activités pharmacologiques, on peut citer la stimulation du système nerveux central, les effets cardiovasculaires et métaboliques, la bronchodilatation, la diurèse, la stimulation de la sécrétion gastrique et à fortes doses la stimulation des muscles squelettiques (Franco *et al.*, 2013). Les méthylxanthines en général et principalement la caféine améliorent les performances physiques et intellectuelles, réduisent la fatigue et donnent la bonne humeur. Ils sont synthétisés à partir de la xanthosine (Fig. 6)

A l'état frais, les fèves de cacao contiennent environ 4% de méthylxanthines selon les travaux de Kadow *et al.* (2013). La Théobromine (3,7-diméthylxanthine, 2-3%) est l'alcaloïde majeur du cacao à laquelle s'ajoutent la caféine (1,3,7-triméthylxanthine, 0,2%) qui existe en faible quantité et la théophylline sous forme de traces (Franco *et al.*, 2013). Tout comme les polyphénols, les alcaloïdes du cacao sont contenus dans des larges vacuoles (Afoakwa *et al.*, 2008). Franco et ses collaborateurs (2013) ont montré que toutes les méthylxanthines du cacao contribuent à l'amertume du cacao et sont responsables de la palatabilité des aliments qui les contiennent. Ces alcaloïdes puriques, ou plutôt le rapport de leurs concentrations (théobromine/caféine, T/C) dans les graines, permettent la discrimination des groupes traditionnels de cacao. Les concentrations en méthylxanthines ne sont pas exploitées directement puisque celles-ci varient d'une récolte à l'autre, alors que le ratio est généralement stable. Les valeurs limites de T/C définissant les intervalles varient légèrement selon les auteurs. Mais, il est reconnu que les *Criollo* montrent des T/C les plus faibles que ceux des *Forastero* ; les T/C des *Trinitario* se situent entre ceux des deux précédents (De Taeye *et al.*, 2014). Selon Trognitz *et*

al. (2013), les T/C des *Criollo* sont compris entre 1 et 2 tandis que ceux des *Forastero* sont supérieurs à 5. Selon De Taeye *et al.* (2014), ceux des *Criollo* sont inférieurs à 3 et ceux des *Forastero* sont supérieurs à 9.

Porter ce ratio en fonction de la concentration en caféine permet d'obtenir une meilleure séparation puisque c'est la teneur en caféine, plus élevée chez les *Criollo*, qui est réellement discriminante (Trognitz *et al.*, 2013). En effet, la teneur en caféine va de 0,05% (en masse) chez les *Forastero* à 1% chez les *Criollo* (De Taeye *et al.*, 2014). Les structures de ces composés sont reprises à la figure 6. Ho *et al.* (2014) ont observé une réduction de 38-40% de théobromine alors que la caféine variait entre 50-54% au cours des traitements post-récoltes. La réduction du taux d'alcaloïdes s'explique par la diffusion de ces derniers au cours des différents processus conduisant au chocolat (Nigam et Singh, 2014). Au cours de la torréfaction, les méthylxanthines réagissent avec les dicétopipérazines (1/2 mole) pour former les adduits qui donnent alors l'amertume caractéristique du cacao torréfié (Biehl et Ziegleder, 2003a). Une autre réduction remarquable a été observée pendant l'alcalinisation. Plus le degré d'alcalinisation augmente plus la teneur de caféine et de théobromine est réduite. Li *et al.* (2012) ont observé une réduction drastique de plus de 20% de théobromine au cours de ce processus.

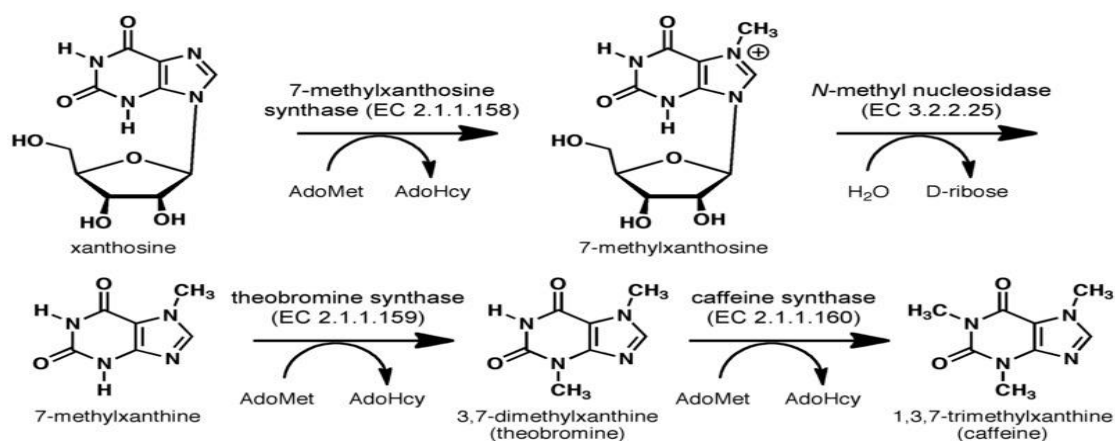


Figure 6: biosynthèse des méthylxanthines chez les plantes (<http://www.eurofins-biomnis.com>)

I.3.3 Précurseurs d'arômes

I.3.3.1 Acides aminés et peptides

Des travaux entrepris par un bon nombre d'auteurs ont affirmé qu'il existe une corrélation significative entre les acides aminés/peptides et la formation des arômes dans une fermentation naturelle (Mulono *et al.*, 2017 ; John *et al.*, 2018). L'accumulation maximale des acides aminés/ peptides peut être utilisée comme indicateur de la durée précise pour obtenir

un cacao avec des bonnes saveurs. Misnawi *et al.* (2005) ont montré que les meilleurs arômes sont pratiquement produits d'un cacao possédant un nombre élevé d'acides aminés/peptides et de sucres réducteurs. Ces travaux concluent les observations de Voigt *et al.* (1994) qui démontraient déjà que les acides aminés et les peptides pouvaient être considérés comme précurseurs d'arômes. Les acides aminés et peptides qui participent à la formation des arômes dérivent des protéines dont le cacao frais contient entre 10-16% du poids sec dépendant des variétés (Aprotosoiaie *et al.*, 2016). Les protéines du cacao sont constituées en majorité de deux grandes fractions : la fraction albumine (52%) et la fraction globuline (43%). La fraction globuline ou encore vicilline 7(S)-globuline seule est dégradée au cours de la fermentation sous l'action de deux protéases pour donner les acides aminés libres et peptides précurseurs d'arômes (Voigt *et al.*, 1993 ; Biehl et Ziegleder, 2003a). L'activité de ces deux enzymes à savoir l'aspartate endoprotéase et la sérine carboxypeptidase est pH-dépendante. Dans les valeurs du pH proche de 3,8, l'activité de l'aspartate endoprotéase est optimale ce qui se traduit par l'accumulation d'un nombre important de peptides hydrophobes. En revanche, lorsque les mêmes valeurs avoisinent le seuil de 5,8 c'est l'activité de la sérine carboxypeptidase qui est optimale en hydrolysant la globuline pour donner les acides aminés hydrophobes libres (leucine, Tyrosine, valine, phénylalanine et alanine) (Biehl et Ziegleder, 2003a ; Afoakwa *et al.*, 2008). Les peptides et les acides aminés produits dans les deux réactions précédentes sont des substrats des réactions de Maillard conduisant à la formation des arômes lors de la torréfaction au cours de laquelle 24-72% d'acides aminés sont perdus (Misnawi *et al.*, 2004). La concentration des acides aminés augmente de 150-200% au cours de la fermentation (Hashim *et al.*, 1998). Des auteurs ont montré que 4 jours de fermentation sont nécessaires pour observer le pic des acides aminés produits et c'est la vitesse de production de la phénylalanine, de l'alanine, de la leucine et la tyrosine est maximale pour obtenir à la fin une concentration maximale en glycine et en asparagine (Kirchhoff *et al.*, 1989 ; de Brito *et al.*, 2001 ; Roshius *et al.*, 2006).

La concentration et la composition en acides aminés/peptides sont donc deux paramètres clés de l'évaluation de la qualité du cacao car elles permettent respectivement de suivre la fermentation et les arômes à obtenir lors de la torréfaction.

I.3.3.2 Sucres réducteurs

Les sucres en général et les sucres réducteurs en particulier participent aux réactions de Maillard puis aux dégradations de Strecker pour donner les arômes au chocolat ou à la liqueur. Keeny (1972) a montré que la quantité de composés aromatiques après torréfaction

dépend du nombre de sucres réducteurs de départ (glucose et fructose). Le sucrose constitue 90% du total des sucres du cacao frais. A deux jours de fermentation, tout le sucrose est transformé sous l'effet de l'invertase en sucres réducteurs (fructose et glucose) et à cinq jours de fermentation (Fig. 7), 84-90% des sucres réducteurs décroissent (Lagunes Galvez *et al.*, 2007). La teneur en sucres réducteurs (2-4% du poids sec) est dépendante des variétés. Giacometti et son équipe (2015) ont observé des teneurs plus élevées chez les *Criollo* et l'inverse chez la variété *Nacional*. La torréfaction entraîne plus de 90% de consommation du fructose et du glucose (Biehl et Ziegler 2003a). Cette variation dépend de la méthode fermentaire, de la température et la durée de torréfaction (Serra Bonvehi et Ventura Coll, 2002).

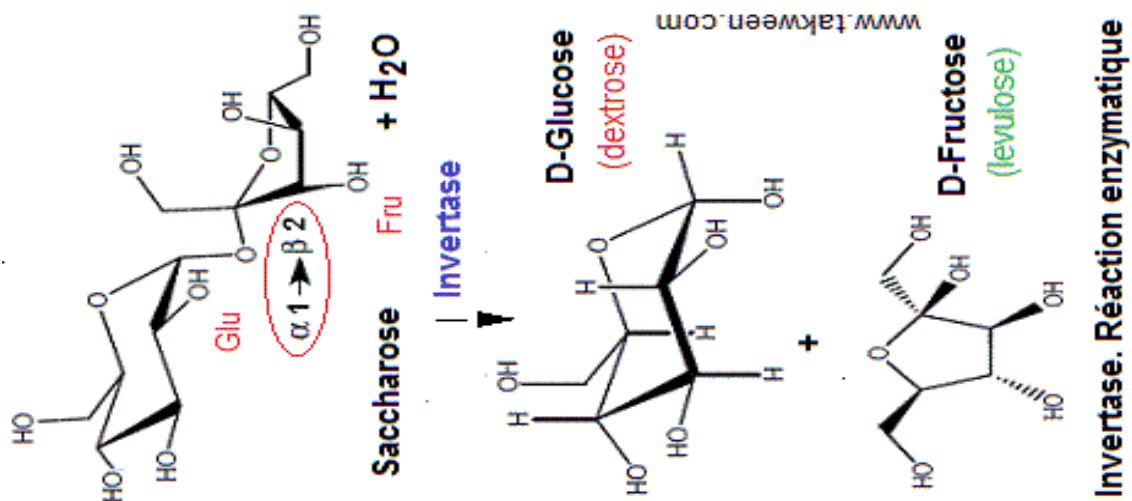


Figure 7: hydrolyse du saccharose par l'invertase avec libération des principaux sucres réducteurs.

I.4 Généralités sur les arômes

Les arômes représentent la fraction volatile des aliments. Majoritairement présents en traces, ces composés chimiques contribuent au goût et surtout à l'odeur caractéristique de chaque aliment ou groupe d'aliments.

I.4.1 Origine

Dans le cacao, on peut distinguer trois (3) origines distinctes mais dépendantes d'arômes. Les arômes sont des composés chimiques dont plus de six cents (600) ont été décrits dans le cacao (Aprotosoiaie *et al.*, 2016).

Le premier groupe est constitué de ceux qu'il convient d'appeler arômes variétaux ou encore arômes de constitution (Dannau, 2017). Ce sont des arômes naturellement présents dans la fève fraîche avant tout traitement post-récolte. Ces arômes dépendent de la variété, du degré de maturité de la cabosse, des conditions environnementales intégrant la pédologie et

aussi du temps du pré-conditionnement. Selon les travaux de Eskes et Lanaud (2007), il existe une corrélation entre les arômes variétaux et ceux présents après torréfaction. Pourtant compte tenu de la faible teneur de ces composés dans la matière, ces derniers, exposés à de fortes températures, disparaissent pour être à nouveau répertoriés après torréfaction.

Le deuxième groupe comprend les arômes dits fermentaires. Ce sont des molécules issues du métabolisme des microorganismes qui réalisent la fermentation du cacao (Portillo *et al.*, 2009 ; Kadow *et al.*, 2013 ; Barel, 2016) et aussi de l'élévation de la température dans le milieu de fermentation.

Enfin, le troisième groupe se compose des arômes dits thermiques. Ces derniers se forment dans leur majorité à chaud et sont typiquement le résultat des réactions de Maillard. « L'arôme chocolat » (Fig. 8) est un mélange de différentes molécules résultant de ces réactions. La durée et la température à laquelle se déroulent les différents procédés influencent significativement l'arôme global formé (Frauendorfer et Schieberle, 2006 ; Portillo *et al.*, 2009 ; Barel, 2016). Les deux premiers types d'arômes comprendraient les composés responsables des notes subtiles des cacaos fins. Ils migreraient de la pulpe vers les cotylédons où ils se concentreraient du fait de leur affinité pour la matière grasse (Portillo *et al.*, 2009 ; Kadow *et al.*, 2013). Cependant, comme ils sont présents dès les premiers stades de transformation du cacao, ils risquent d'être perdus au fil des procédés.

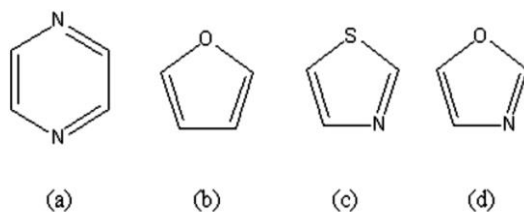


Figure 8: quelques structures de base des composés hétérocycliques du chocolat : (a) pyrazine, (b) furanne, (c) thiazole et (d) oxazole (Natioan Institute of STandards, 2017).

I.4.2 Groupes chimiques des composés d'arômes du cacao/chocolat

Les composés responsables de l'arôme du cacao/chocolat appartiennent à plusieurs classes chimiques dont nous citerons ici les plus rencontrées.

I.4.2.1 Alcools

Les alcools apparaissent durant la fermentation, résultat de l'activité des microorganismes. L'élévation de la température durant la fermentation entraîne également la dégradation des acides aminés avec formation des alcools (Aprotosoiaie *et al.*, 2016). Malgré leur perte durant les technologies post-récoltes par ventilation, les alcools confèrent tout de même

un arôme fruité, vert et floral au cacao/chocolat. Les alcools supérieurs (secondaires) et leurs esters sont alors les plus recherchés ici pour leurs arômes (Rodriguez-Campos *et al.*, 2012).

I.4.2.2 Esters

C'est la deuxième classe des composés aromatiques importants du cacao/chocolat après les pyrazines. Les esters éthyle, méthyle et acétates prédominent (Ramli *et al.*, 2006 ; Rodriguez-Campos *et al.*, 2011). Présents dans le cacao torréfié ou non, les esters confèrent un arôme fruité au cacao/chocolat et sont caractéristiques de certaines liqueurs du cacao d'Asie (Jinap *et al.*, 1998).

I.4.2.3 Pyrazines

Les pyrazines constituent la classe dominante des composés hétérocycliques du chocolat. Ils représentent à eux seuls 40-45% des composés volatils et sont pour ce fait des odorants clefs du chocolat. Plusieurs qualificatifs aromatiques leur sont attribués, on citera entre autres fumé, feuille verte, noisette et même terre (Czerny et Grosch, 2000 ; Czerny *et al.*, 2008). Plus de 80 molécules de pyrazines ont été déjà identifiées et décrites comme favorisant l'arôme du cacao/chocolat. Ils constituent des acylpyrazines dont les substituants sont les méthyle, éthyle, etc... et dont les tétraméthyle et triméthyle sont les plus représentatifs (Afoakwa *et al.*, 2008 ; Ziegler, 2009). Les pyrazines peuvent de fois discriminer l'origine géographique et même variétale des cacaos/chocolats. Par exemple, le *Forastero* bien fermenté du Ghana présente des valeurs plus importantes (698 µg/100 g) que le *Criollo* du Mexique (142 µg/100 g) (Ziegler, 2009). De manière générale, les variétés *Criollo* présentent des concentrations plus importantes en pyrazines alors que les *National/Arriba* présentent les plus faibles (Afoakwa *et al.*, 2008 ; Giacometti *et al.*, 2015). Si la température et la durée des processus du cacao/chocolat sont des facteurs limitants de la concentration des pyrazines, il convient de noter que la plupart d'entre eux sont issus des cétoamines suites aux dégradations de Strecker et des réactions de Maillard au cours de la torréfaction. Parmi les pyrazines totales, les tétraméthylpyrazines occupent les 90% et le rapport tétraméthylpyrazine/triméthylpyrazine a été pris comme indicateur du degré de torréfaction. Les valeurs comprises entre 1,5-2,5 indiquent le degré normal ou souhaité de torréfaction et celles inférieures à 1 indiquent une sur-torréfaction ou brûlure (Ziegler, 2009). Les pyrazines (tétraméthylpyrazines) peuvent apparaître au cours de la fermentation mais sont importants en présence des champignons pour favoriser un caractère chocolaté du cacao/chocolat (Ramli *et al.*, 2006 ; Ho *et al.*, 2014). La teneur en pyrazines augmente également durant le séchage par les réactions de Maillard lors-

que la teneur en eau diminue suite et par élévation des températures de 30 à 50°C (Puziah *et al.*, 1999).

I.4.2.4 Acides organiques

Ils sont majoritairement issus du métabolisme des sucres et principalement du sucrose lors de la fermentation. L'acide acétique est le plus représentatif et responsable de l'arôme vinaigre du cacao fermenté. D'autres acides (acide isobutyrique, acide isovalérique et acide propionique) ont également été identifiés dans le cacao marchand. Ils sont responsables des notes indésirables du cacao marchand mais sont éliminés durant la torréfaction et le conchage (Aprotosoia *et al.*, 2016). Une fermentation prolongée entraîne une augmentation de la teneur en acides volatiles avec pour conséquence l'apparition des arômes indésirables dans le cacao. Cependant, 70% de l'acide acétique sont éliminés au cours du séchage et surtout de la torréfaction (Rodriguez-Campos *et al.*, 2012).

I.4.2.5 Phénols et terpénoïdes

Les terpènes ont déjà été identifiés dans le cacao et participent à l'arôme du cacao/chocolat. Ce sont des molécules de longue chaîne aliphatique issues du métabolisme de l'acétate.

Les phénols peuvent se retrouver dans le cacao et seraient responsables des arômes indésirables (fumé) du cacao. Jinap et son équipe (1999) ont observé qu'un cacao de haute qualité serait dépourvu de phénols.

La concentration en certains terpénoïdes a été marquée comme très importante sur la discrimination de la qualité des cacaos surtout les cacaos fins. Parmi ces terpénoïdes, on trouve majoritairement le linalool puis le myrcène et l'ocimène. Selon les travaux de Ziegler (1990) puis Biehl et Ziegler (2003a), les cacaos classiques contiennent entre 0,2-0,8 µg/g de linalool comparés aux cacaos fins qui contiennent entre 1,6-3,8 µg/g de linalool. Ce composé est responsable des notes florales des cacaos fins.

I.4.3 Description des arômes ou profils sensoriels.

Les arômes peuvent être tributaires d'un certain nombre d'adjectifs selon la perception retro-nasale perçue par un panel formé pour la circonstance. Selon Afoakwa *et al.* (2008) ; Owusu *et al.* (2010) ; Magagna *et al.* (2017), les arômes appartiennent à plusieurs familles et sont en relation directe avec certains composés chimiques. Ces familles constituent les notes subtiles recherchées par les consommateurs et sont dépendantes d'abord des génotypes, ensuite des conditions environnementales et enfin des traitements post-récoltes. Voici quelques

familles des notes subtiles rencontrées dans le cacao et qui servent souvent à l'analyse sensorielle de échantillons de cacaos et chocolats :

Famille sucrée : vanille, caramel, gâteaux, miel

Famille fruitée : fruits rouges, agrumes, bonbons acidulés, abricot sec, raisin sec

Famille boisée : boisé, sous-bois, herbes séchées, écorce, terre, tourbe

Famille fumée : fumé, tabac blond, cigare, thé noir, café, fumé, croute de pain

Famille empyreumatique : torréfié, grillé, malté, café

Famille florale : floral, fleur d'oranger, jasmin

Famille sèche : noisettes, amandes, raisins, abricots, bananes

Famille épicée : épicé, réglisse, mentholé, pain d'épice, cannelle, poivré

Famille miel : miel amer, miel floral, pollen

Famille herbacé-végétale : feuille verte, foin

Famille lactée : lacté, beurré, crème, yaourt

I.5 De la cabosse mature au Chocolat

I.5.1 Récolte et Pré-conditionnement

La récolte du cacao se fait généralement après changement de coloration de la cabosse. La cabosse déjà à ce stade est qualifiée de mature. Pour la plupart des variétés, on va observer une variation du vert au jaune ou du rouge au rouge orangé pour ce qui est de certains *Trinitario*. Etant donné les superficies importantes des champs et la main d'œuvre généralement insuffisante, il est souvent difficile voire impossible pour les cacaoculteurs de passer à l'écabossage juste après récolte. D'où le temps de répit qui sépare la récolte et l'écabossage. Cette période est appelée pré-conditionnement. Elle varie selon le volume du travail et des aléas climatiques et même de la distance de l'exploitation. Habituellement les durées minimales s'élèvent à 3 jours et maximales à 10 jours. Plusieurs études ont montré que le degré de maturité et surtout le temps de pré-conditionnement participeraient à obtenir un cacao et ses sous-produits de bonne qualité aromatique. Le pré-conditionnement permet un changement des propriétés du mucilage créant ainsi un environnement propice au développement des microorganismes fermentaires (Afoakwa *et al.*, 2011). Le pré-conditionnement serait donc responsable de la réduction en polyphénols (Afoakwa *et al.*, 2012), en sucrose, en glucose, en fructose, en éthanol et acide acétique. Tout ceci favoriserait l'élévation du pH des fèves après fermentation et la bonne perception des arômes dans le chocolat final (Saltini *et al.*, 2013). Hinneh *et al.* (2018) ont trouvé une augmentation exponentielle de la teneur en acides aminés totaux dans le cacao en fonction du nombre de jours de pré-conditionnement. Leur expérience a été réalisée sur une période allant jusqu'à sept (7) jours de pré-conditionnement. Cependant

il convient également de souligner que la durée supérieure à 10 jours augmenterait exponentiellement le nombre de fèves moisies après séchage (Ortiz de Bertorelli *et al.*, 2009).

I.5.2 Ecabossage et Fermentation

L'écabossage permet d'exposer les fèves contenues dans la cabosse à la température et lumière solaires ambiantes. Il peut être effectué à l'aide d'un gourdin, d'une machette ou encore une pierre légère pour pouvoir en extraire les graines sans les endommager (Guehi *et al.*, 2010 b).



Figure 9: entassement des cabosses (A), processus d'écabossage (B) et de fermentation (C) (CIRAD et Nestlé, 1999)

L'écabossage des fruits du cacaoyer exige une main-d'œuvre importante qu'il serait plus intéressant d'affecter à l'opération de récolte. Une mécanisation s'impose, mais une étude préalable prévoyant les facteurs technologiques susceptibles d'influencer le processus de fermentation demeure nécessaire (Vincent, 1970).

La fermentation qui suit pratiquement l'écabossage, désigne l'ensemble des techniques à réaliser pour faire varier la texture des fèves de cacao fraîches en un état plus souhaitable pour les sous-produits cacaotés. Le changement de texture des fèves fraîches au cours de la fermentation confère une diminution du pouvoir germinatif des graines et génère le développement des précurseurs d'arôme dont le chocolat en dépend. Il convient de noter que les approches pour la réalisation de la fermentation diffèrent d'un pays à l'autre, au sein d'un pays et même entre producteurs. Les différences observées sont beaucoup prononcées en termes de durée et aussi du degré de maturité des cabosses récoltées (Camu *et al.*, 2008 ; Ganeswari *et al.*, 2015). Si les deux paramètres suscités sont identiques, il convient également de noter que les milieux de fermentation sont souvent différents. La fermentation (Fig. 10) se fait soit en tas sur des feuilles de bananiers avec lesquelles on recouvre également les fèves à fermenter, soit dans les caisses en bois. La fermentation est une étape clé des technologies post-récoltes des fèves de cacao. C'est au cours de la fermentation que se développent le type et la concentration des précurseurs d'arômes (Fig. 10) (Kadow *et al.*, 2013 ; Krahmer *et al.*, 2015). Selon

le type de cacao, la durée de fermentation préconisée va de 2-3 jours pour les *Criollo*, 3-5 jours pour les *Trinitario* et 5-7 jours pour les *Forestaro* (Aprotosoia *et al.*, 2016). Différents microorganismes ont été décrits et se succèdent au cours de la fermentation à savoir des champignons et surtout des bactéries (Garcia-Armisen *et al.*, 2010 ; Lima *et al.*, 2011). Ce sont donc ces microorganismes naturellement présents au lieu de fermentation, sur les cabosses et dans le sol qui vont permettre une succession des réactions biochimiques nécessaires au changement de la fève. Par exemple, nombre d'auteurs s'accordent que la production de l'éthanol, des acide acétique et lactique voire d'autres acides est l'œuvre des microorganismes à partir de la bioconversion du sucrose, principal sucre de la pulpe. Les composés néosynthétisés sont responsables de l'élévation de la température dans le milieu fermentaire et par là de la mort de la radicule du cotylédon (Pereira *et al.*, 2012).

L'élévation de température va permettre la rupture des membranes cellulaires et par la suite des rencontres entre substrats (protéines, polysaccharides, etc...) et enzymes (protéinases, lipases, enzymes oxydatives, etc...). Ces enzymes vont donc permettre par complexation, oxydation, réarrangement et diffusion le changement de coloration de la fève du violet au brun, brun-blanc ou alors blanc-nuit dépendamment du degré de maturité des fèves et de leur variété. De plus, ces réactions biochimiques spontanées vont réduire l'acidité, l'amertume et l'astringence dans la fève (Lagunes-Galvez *et al.*, 2007).

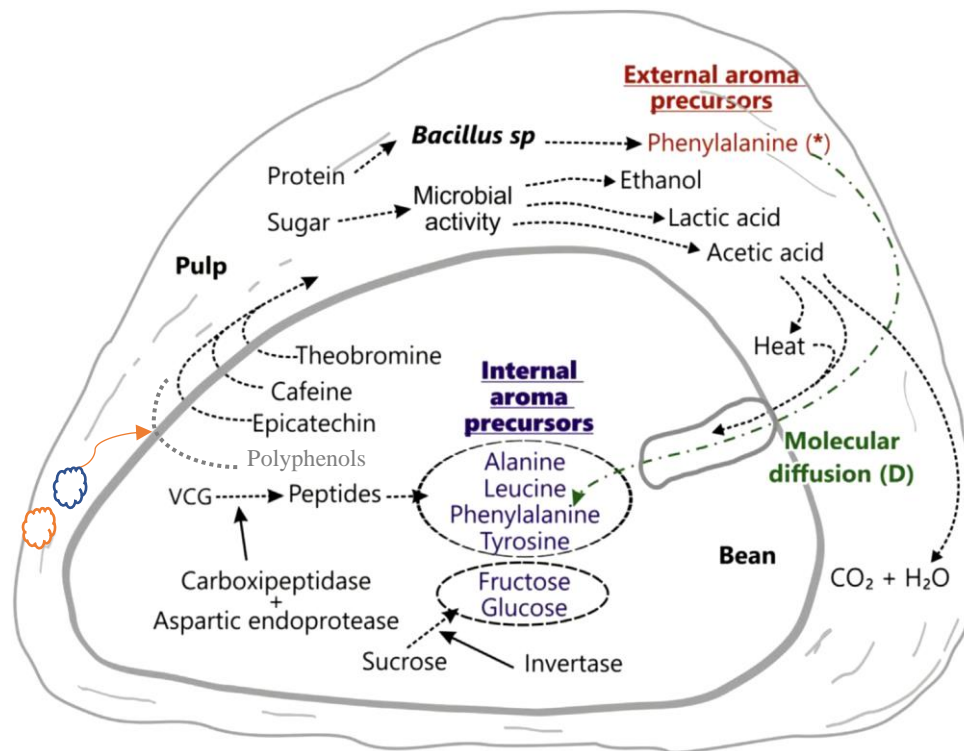




Figure 10: principaux précurseurs d'arômes produits au cours de la fermentation des fèves et leur diffusion moléculaire (adapté de Beckett, 2008).

- Protéases : aspartate endoprotéases (pH=3,5) et carboxypeptidase (pH=5,5)
- Invertase : pH=4,5
-  Polyphénol oxydase (PPO) : pH=5,4
-  Glycosidase : pH=4-4,5

I.5.3 Séchage

Il est de coutume de faire passer le cacao fermenté au séchoir pour réduire sa teneur en eau puis stopper l'activité d'un nombre de microorganismes et également éviter l'apparition et développement de certains d'autres. Dans les normes, une humidité de 7 à 8 % serait nécessaire pour la conservation du cacao et maintenir sa qualité (Zahouli *et al.*, 2010). Bien que deux grands types de séchage existent à savoir le séchage solaire et le séchage artificiel, il convient de noter que le séchage solaire reste le plus répandu. On évalue généralement le séchage en fonction de la durée, de la température, de l'intensité et de la vitesse. En fonction de ces paramètres, des travaux réalisés ont montré que le séchage solaire donnait de meilleurs résultats comparés au séchage artificiel (Zahouli *et al.*, 2010). Selon les travaux de Saltini *et al.* (2013), le séchage initie l'oxydation des polyphénols majeurs par l'action des polyphénoxydases avec pour résultat la formation d'autres composés volatils et l'apparition de la couleur brune caractéristique d'un cacao bien séché. Un séchage bien mené est donc caractéristique des fèves brunes avec astringence et amertume réduites. Selon que le séchage est effec-

tué, l'impact sur la qualité du cacao est facilement observé. Un séchage très rapide va entraîner la rétention des quantités importantes d'acides y compris l'acide acétique ce qui va baisser le pH et défavoriser la qualité du cacao. Cependant un séchage très long va entraîner le développement des moisissures, une faible acidité et une mauvaise coloration des fèves (Saltini *et al.*, 2013).

I.5.4 Broyage

La tendance actuelle est de faire séparer les coques « husks » des cotylédons « nibs » afin de continuer avec les cotylédons pour la suite du processus de fabrication de la masse de cacao (solide) ou de la liqueur de cacao (liquide). Le procédé est effectué lorsque le cacao est bien sec c'est-à-dire un taux d'humidité inférieur ou égal à 8 %. Le broyage avant torréfaction permet de réduire au même niveau des cacaos qui, dans la plupart des cas présentent des fèves aux dimensions variées compte tenu de la pléthore de variétés et origines qui coexistent au sein d'un même lot ou d'un même champ.

I.5.5 Torréfaction

La torréfaction se fait soit avec des fèves entières fermentées et séchées ou alors comme on vient de le souligner plus haut soit avec des concassés de cotylédons issus du broyage. Qu'elle soit effectuée dans l'un ou l'autre cas, la torréfaction a pour but de réduire la teneur des fèves en eau jusqu'à 2 voire 1%, à favoriser la séparation entre la coque et l'amande de la fève dans le cas des fèves entières, à continuer d'éliminer l'acide acétique et à développer l'arôme chocolat. La torréfaction a toujours été considérée comme la deuxième étape clé du processus de fabrication du chocolat et de la qualité qui en découle. C'est durant cette étape qu'il y'a développement de la texture des cotylédons, réduction des odeurs indésirables (excès d'acide acétique), réduction du taux d'humidité et surtout développement des arômes spécifiques (Giacometti *et al.*, 2015 ; Kongor *et al.*, 2016). Le type, la qualité et aussi la spécificité des arômes à obtenir pour un chocolat dépendent en majorité de la durée et la température de la torréfaction (Ramli *et al.*, 2006 ; Krysiak *et al.*, 2013 ; Owusu *et al.*, 2013). Par exemple certains chocolats noirs et au lait nécessitent des températures moins intenses lors de la torréfaction. De même pour les cacaos déjà dépulvés, la durée et la température de torréfaction sont réduites. Classiquement les cacaos sont torréfiés entre 110°-150°C pendant 15-45 minutes (Barel, 2016 ; De Taeye *et al.*, 2017). Les cacaos dits fins nécessitent des températures de torréfaction moins élevées que le cacao ordinaire (Oracz et Nebesny, 2014 ; Kongor *et al.*, 2016 ; Barel, 2016). La torréfaction affecte l'habilité des polyphénols d'interagir avec les protéines, ce qui a pour effet la réduction de l'astringence (Ioannone *et al.*, 2015). Les acides aminés et les peptides générés par l'activité protéolytique et l'élévation de température dans

le milieu fermentaire vont réagir avec les sucres réducteurs issus de l'activité des glucanases pour former les arômes : les réactions de Maillard (Fig. 11). C'est une suite de réactions non-enzymatiques qui ont lieu à haute température et pH bas entre un sucre réducteur et une fonction amine. Une autre catégorie de réactions ayant lieu au cours de la torréfaction est les dégradations de Strecker qui conduisent à partir des acides aminés et sucres réducteurs aux pyrazines. La structure des acides aminés (Fig. 12) mieux la nature de la chaîne latérale dicte donc l'aldéhyde qui en résulte (Afoakwa *et al.*, 2008). Par la suite des réaction l'aldéhyde de Strecker va dicte à son tour le pyrazine final. Les acides aminés hydrophobes (leucine, isoleucine, phénylalanine et tyrosine) sont des contributeurs majeurs des arômes (Voigt *et al.*, 1993 ; 1994) ainsi que les sucres réducteurs (glucose et fructose) issus de l'hydrolyse du sucrose (Lopez *et al.*, 1978). Par exemple, leucine et glucose donnent un arôme qualifié de chocolat sucré à 100°C, thréonine ou glutamine et glucose donnent un arôme dit chocolat pourtant valine et donnent un arôme chocolat fondant à 180°C (Dimick and Hoskin, 1999).

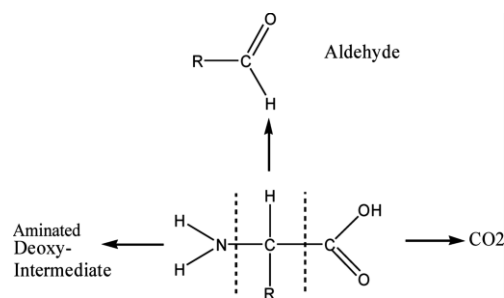


Figure 11: mécanisme des réactions de Maillard (Afoakwa *et al.*, 2008).

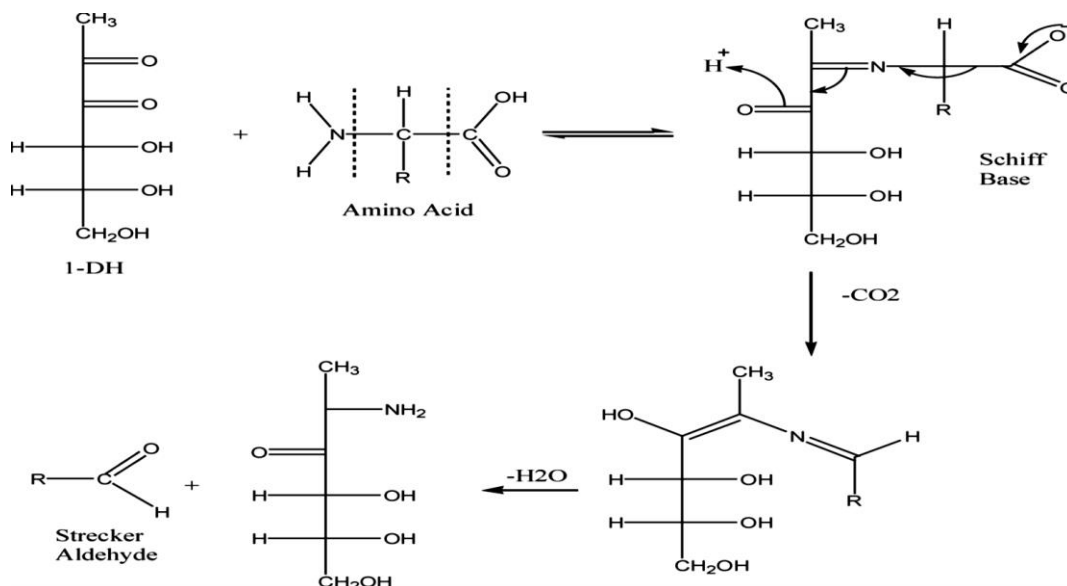


Figure 12: mécanisme de dégradation de Strecker (Afoakwa *et al.*, 2008).

I.5.6 Conchage

La conche est un mixage pendant plusieurs heures et à des températures moyennement élevées (40°-80°C), de la liqueur de cacao pour développer l'arôme final caractéristique et la texture agréable du chocolat (Afoakwa *et al.*, 2008 ; Barel, 2016). Elle se divise pratiquement en deux étapes : la conche à sec et la conche liquide. La conche se termine par la formation d'une émulsion et l'oxydation des tannins ce qui contribue à un changement de couleur (Counet *et al.*, 2002). Des travaux déjà rendus publics ont montré qu'un conchage de 12h à 75°C réduit le contenu résiduel en épicatechine d'environ 50% alors que la diminution des contenus en oligomères n'est que d'environ 10% (De Taeye *et al.*, 2014). Bien que le rôle primordial du conchage soit d'améliorer la flaveur finale du chocolat, il convient tout de même de souligner que la plupart des composés odorants clés du chocolat noir sont déjà présents avant le conchage (Counet *et al.*, 2002). De plus, la formation d'une liqueur de cacao réduit considérablement les concentrations en différents composés volatils (Bailey *et al.*, 1961). Tous les aldéhydes de Strecker sont partiellement perdus par évaporation et/ou réactions chimiques (Counet *et al.*, 2002). En revanche, des composés comme le 1-octèn-3-one, le 2,4-décadiène, le trisulfure de diméthyle, le furanéol, le maltol ou le 2-phényl-5-méthyl-2-hexène seraient produits lors du conchage. En ce qui concerne les hétérocycles, seuls les moins volatils ont atteint des concentrations plus élevées après le conchage. Ces composés sont, par exemple, des pyrazines polysubstituées, des furannes ou des pyrroles (Schnermann et Schieberle, 1997 ; Counet *et al.*, 2002 ; Liu *et al.*, 2015).

I.6 Enjeux actuels du cacao dans le monde

I.6.1 Pays producteurs

Le cacao connaît de véritables changements dans la plupart des pays qui le produisent. En effet le cacao fait face à deux véritables problèmes. D'une part la baisse des prix du cacao marchand et le désintéressement de la jeunesse, d'autre part les attaques pathologiques répétitives et sévères sans oublier le phénomène des changements climatiques. Pour faire face à ces problèmes, la sélection par production d'hybrides est devenue ces dernières années un problème d'importance mondiale (Whitkus *et al.*, 1998 ; Cosme *et al.*, 2016). Les cacaoculteurs recherchent surtout des cacaoyers productifs pour rendre important leur tonnage. A ces cacaoyers productifs, s'ajoute également le critère tolérant aux maladies et aux changements climatiques. L'hybridation anarchique a eu pour conséquence la perte des cacaos originaux ou sauvages au détriment des cacaos hybrides. Cependant plusieurs études ont souligné l'importance de l'identification et de la conservation de matériel génétique « pur », reliquat

d'anciennes cultures (Ji *et al.*, 2013 ; Vásquez-Ovando *et al.*, 2014 ; Cosme *et al.*, 2016). Ces cacaoyers « sauvages » sont une source de diversité génétique exploitable pour enrichir les germoplasmes et lancer de nouveaux programmes de sélection (Vásquez-Ovando *et al.*, 2014 ; Cosme *et al.*, 2016). Des efforts sur l'enrichissement des germoplasmes ont été réalisés (Whitkus *et al.*, 1998). Il est donc mal connu des cacaoculteurs que le problème n'est pas de beaucoup produire mais surtout de produire qualité. Donovan (2006) remarquait déjà que les cacaos fins se vendent 2 à 3 fois plus cher que les cacaos classiques.

I.6.2 Pays consommateurs

La tendance actuelle dans les pays consommateurs de chocolat et autres produits cacaotés est d'augmenter la teneur en cacao dans ces produits cacaotés. Ce fait est en effet lié à la pléthore d'études qui soutiennent les effets bénéfiques du cacao sur la santé des consommateurs. Cependant, certains cacaos sont mieux appréciés et sollicités dans le chocolat et autres produits cacaotés que d'autres compte tenu des attributs de leurs arômes. L'arôme est, de ce fait devenu le critère qualité le plus important du chocolat (Owosu *et al.*, 2012). Le cacao ordinaire peu aromatique et légèrement amer ou aigre (Marita *et al.*, 2001), ne convient pas pour produire un chocolat aux arômes fins et par conséquent, la demande en cacao fin devrait encore augmenter pour suivre le marché des produits chocolatés de haute qualité (Pereira-Caro *et al.*, 2013 ; Ji *et al.*, 2013 ; Vásquez-Ovando *et al.*, 2014 ; Barel, 2016).

CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.1 Matériel

Le matériel utilisé (Tableau II) provient de deux sources : une source végétale ou biologique représentée par les fèves de cacao fraîches, fermentées/séchées, fèves torréfiées puis une deuxième source industrielle constituée de chocolats issus fèves de chaque hybride.

Tableau II: croisements effectués entre clones de cacaoyers

Groupes	Croisements
Intra-groupe I	SNK16×ICS40
	ICS40×SNK16
	ICS40×SNK13
	SNK13×ICS40
	SNK13×SNK16
	SNK16×SNK13
	ICS40 ×SNK413
Inter-groupe	SNK413 ×ICS40
	SNK10×IMC67
	IMC67×SNK10
	ICS40×SCA12
	SCA12×ICS40
	SNK16×T60/887
	T60/887×SNK16
	ICS40×UPA134
	UPA134×ICS40
	SNK16×SCA12
	SCA12×SNK16
	SNK13×SCA12
	SCA12×SNK13
	SNK16×UPA134
UPA134×SNK16	
SNK10×T79/501	
T79/501×SNK10	
Intra-groupe II	T79/467×SCA12
	SCA12×T79/467
	SCA12×UPA134
	UPA134×SCA12

A la suite des travaux, huit hybrides présentant les meilleurs pourcentages de nouaison et d'obtention de cabosses mures ont été retenus.

II.1.1 Fèves fraîches, fermentées/séchées et torréfiées

Les fèves de chacun des 8 hybrides retenus ont été fermentées puis séchées au soleil pour obtenir des fèves fermentées/séchées ou cacao. Ces 8 hybrides ont été additionnés aux deux cacaos marchands acquis dans deux grossistes acheteurs de cacao dans la région du Centre Cameroun. Ces différents cacaos sont présentés sous formes de trois matrices : fèves fermentées/séchées, fèves torréfiées et chocolat noir en bar (Fig. 13).



Figure 13: quelques fèves de cacao frais (A et B), fermenté/séché (C) et torréfié (D) (Cliché AKOA, 2018)

II.1.2 Chocolats noirs issus des fèves

La figure ci-dessous présente les six chocolats produits à partir des fèves fermentées/séchées dont un par hybride et l'autre pour le cacao tout venant (Fig. 14).

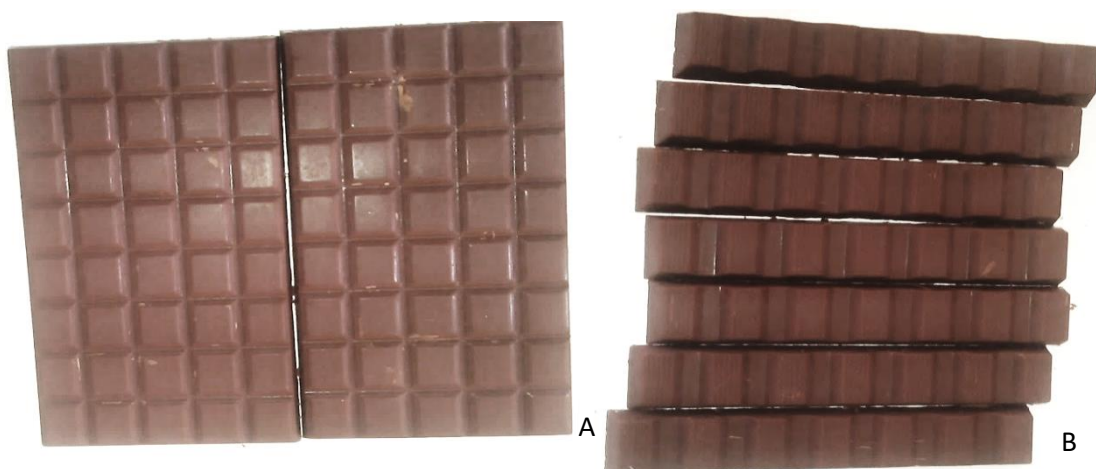


Figure 14: quelques chocolats produits. (Cliché AKOA, 2018). A : SNK16×T60/888 ; B : ICS40×UPA134

II.2 Méthodes

II.2.1 Impact de l'origine génétique du pollen

II.2.1.1 Pollinisation manuelle

La pollinisation manuelle a été effectuée en avril-mai 2017 dans les centres SODE-CAO de Mengang et de Nkoemvone. Les caractéristiques de ces deux zones d'étude sont présentées à l'Annexe 2. Le sol de ces zones (de type ferrallitique-argileux) a été amendé par 15 kg d'engrais N-P-K (20-10-10) à raison de 100g par pieds de cacaoyer chaque mois.

La technique consiste tout d'abord à identifier la veille sur les cacaoyers des clones parentaux considérés, des boutons floraux matures et susceptibles de s'épanouir le lendemain. Débarrassés des autres boutons floraux en gestation, les boutons floraux matures sont protégés par les manchons en tissu de toile de moustiquaire, qui empêchent tout contact entre la fleur et les insectes et fourmis pollinisateurs. Après une nuit, les boutons floraux précédemment couverts sont épanouis le lendemain matin. Très tôt, les fleurs sont prélevées sur les tiges de cacaoyers considérés comme clones mâles. S'en suit alors la pollinisation manuelle proprement dite (Fig. 15). Sur la fleur considérée comme femelle, les staminodes sont éliminés à l'aide d'une pince stérile pour rendre le style et stigmate accessibles. De la même manière, le bout d'une étamine est obtenu sur la fleur donneuse de pollens (mâle). Les anthères de l'étamine prélevée sont frottées sur le stigmate et le style de la fleur femelle précédemment protégée et fraîchement épanouie. Cette fleur est recouverte d'un manchon blanc puis, tout à côté est fixée une étiquette portant les deux premières lettres du nom du pollinisateur, la date du jour et le croisement effectué. Le gonflement du stigmate (la nouaison) de la fleur pollinisée (24 à 72 h après la pollinisation manuelle) témoigne d'une fécondation résultant de la compatibilité des deux fleurs parentales et des conditions favorables lors de la pollinisation. Dans le cas contraire, les fleurs non fécondées se déshydratent et tombent. La jeune cabosse (chérille) évolue tout en nécessitant des entretiens réguliers par les fongicides (Plantomil 72 WP 50 G) et insecticide (perméthrine). Une quantité totale de 375 g de perméthrine a été utilisée en cinq applications. Un pulvérisateur à main avec un jet à cône creux doublé d'une pression de 280 KPa a été utilisé. Des préparations du fongicide à base de cuivre (50 g de fongicide dans 15 l) ont été pulvérisées dans le même process que la perméthrine durant toute la période de suivi en champ. Ces traitements ont été effectués toutes les deux semaines pendant toute la durée de l'expérimentation. Au total, 750 g de fongicide (Plantomil 72 WP 50 G) ont été utilisés pour prévenir les attaques fongiques. Les chérilles ont évolué pour donner des fruits mûrs quatre à sept mois plus tard dépendants des génotypes et des conditions environ-

nementales (Fig. 15). Les fèves des cabosses mûres de chaque hybride produit, ont constitué nos échantillons de fèves avec lesquelles on a produit du chocolat monovariétal (Fig. 16).



Figure 15: étapes de la pollinisation manuelle en champ (Cilas, 1991)

a: coussinets floraux d'un cacaoyer ; **b:** bouton floral isolé ; **c:** protection du bouton floral du clone femelle par un tulle léger ; **d:** fleur du clone femelle épanouie ; **e :** élimination des staminodes sur la fleur du clone femelle ; **f:** prélèvement de la fleur du clone mâle et isolement des anthères ; **g:** fleur mâle dépourvue de corolle ; **h:** libération du pistil par frottement de la fleur mâle sur la fleur femelle ; **i:** jeune fruit hybride



Figure 16: quelques hybrides obtenus par pollinisation manuelle (Cliché AKOA, 2018).

A (SNK13×SCA12), B (SCA12×ICS40) et C (SNK16×SCA12)

II.2.1.2 Récolte et Pré-conditionnement

La récolte des échantillons s'est faite deux fois : début du mois d'août et fin octobre. Pour les hybrides ICS40, la récolte s'est déroulée en novembre à cause de leur maturité tardive. Cette récolte était faite en une journée par notre équipe accompagnée des agents de la SODECAO.

Après récolte, les cabosses contenues dans les sacs sont transportées dans le magasin du centre de la SODECAO. Les cabosses en tas (Fig. 17), vont passer sept jours à température ambiante à l'abri du soleil et de la pluie.



Figure 17: cabosses de cacao mures en pré-conditionnement (Cliché AKOA, 2018)

II.2.1.3 Fermentation et Séchage

Sept jours après pré-conditionnement dans le magasin à Nkoemvone ou Mengang, les cabosses ont été ouvertes à l'aide d'un gourdin en bois. Les fèves de chaque hybride ont été transportées du hangar pour l'IRAD où elles ont été mises dans des caisses en bois de 30 cm de large, 50 cm de long pour une hauteur de 30 cm tapissées de feuilles de bananier pour la fermentation (Fig. 18A). Ces fèves ont été remuées chaque 48h pendant six jours. Le 6^e jour, elles ont été séchées au soleil pendant 10 jours (Fig. 18B).



Figure 18: fèves fermentées après 2 jours (A) et séchées après 3 jours au soleil (B) (Cliché AKOA, 2018)

II.2.1.4 Evaluation des traits agronomiques

II.2.1.4.1 Taille et épaisseur moyennes des cabosses par hybride

La taille moyenne de 10 cabosses prises au hasard a été mesurée en utilisant un pied à coulisse. Le même matériel a servi à la mesure de l'épaisseur moyenne du cortex mesurée au niveau de la demi-moitié de la cabosse.

III.2.1.4.2 Nombre moyen de fèves par cabosse et par hybride

Le nombre moyen des fèves fraîches juste après écabossage a été pris en compte sur les 10 cabosses précédemment susmentionnées.

II.2.1.5 Paramètres physicochimiques des fèves

II.2.1.5.1 Test à la coupe (*Cut-test*)

Le test à la coupe ou *Cut-test* est en général utilisé pour apprécier la convenance des fèves à la fabrication du chocolat (Shamsuddin & Dimick 1986). Il s'agit de déterminer le degré de fermentation des fèves de cacao (Misnawi *et al.*, 2003) et d'observer les changements de couleur survenus dans les cotylédons pendant la fermentation. La détermination des couleurs des fèves a été faite suivant la méthode de Niemenak *et al.* (2014) avec quelques modifications. A l'aide d'un appareil mécanique à *Cut-test* (Guillotine, MAGRA 12, Swiss company) fourni par le Laboratoire de Technologie Agro-Alimentaire (LTAA) de l'Institut de Recherche Agricole pour le Développement (l'IRAD), 50 fèves ont été choisies au hasard dans chaque échantillon puis rangées dans l'appareil. Les fèves ont été coupées longitudinalement et simultanément. La couleur de chaque cotylédon a été appréciée à la lumière du jour et classée dans l'une des cinq catégories prédéfinies : blanc-noirâtre (fermentation originale),

brune (très bien fermentée), partiellement brune ou pourpre (moins bien fermentée), partiellement violette (insuffisamment fermentée), violette (non fermentée), noire (ardoisée ou moisie) (Fig. 19). L'expérience s'est faite sur deux kilogrammes (kg) de chaque échantillon de cacao.



Figure 19: aspect de quelques fèves après un test à la coupe (Cliché AKOA, 2018).
A :(ICS40×SCA12) et B :(SNK10×IMC67)

II.2.1.5.2 Masse des fèves

Les fèves de chaque génotype à l'état frais sortant du pré-conditionnement ont été pesées à l'aide d'une balance sensible (Sartorius laboratory PRO 32/34F). Les fèves sèches dont le taux d'humidité a été préalablement estimé à environ 7% par un humimètre (LDS-1 G) ont également été pesées. Un lot de 50 fèves a été pesé pour chaque hybride et l'expérience s'est répétée trois fois pour chaque génotype à l'état frais et à l'état sec respectivement.

II.2.1.5.3 pH

Les valeurs du pH des fèves fermentées/séchées de chaque échantillon ont été obtenues à partir de la méthode décrite par Hii *et al.* (2009) avec quelques modifications. Quinze fèves choisies au hasard ont été dépulpées puis écrasées à l'aide d'un Moulinex (PHILIP, 600W). Trois grammes de poudre ont été mis dans un bocal puis complétés avec 30 ml d'eau distillée préalablement portée à ébullition (100 °C pendant 30 min). Le mélange a été homogénéisé à l'aide d'un agitateur magnétique (Fig. 20) et laissé au repos à température ambiante (25 -30° C) puis filtré à l'aide d'un papier filtre (Whatman N°4). Le processus a été effectué en tripli-

quet pour chaque échantillon et la mesure du pH a été effectuée à l'aide d'un pH-mètre (pH-2006 pHmeter) calibré à pH=4

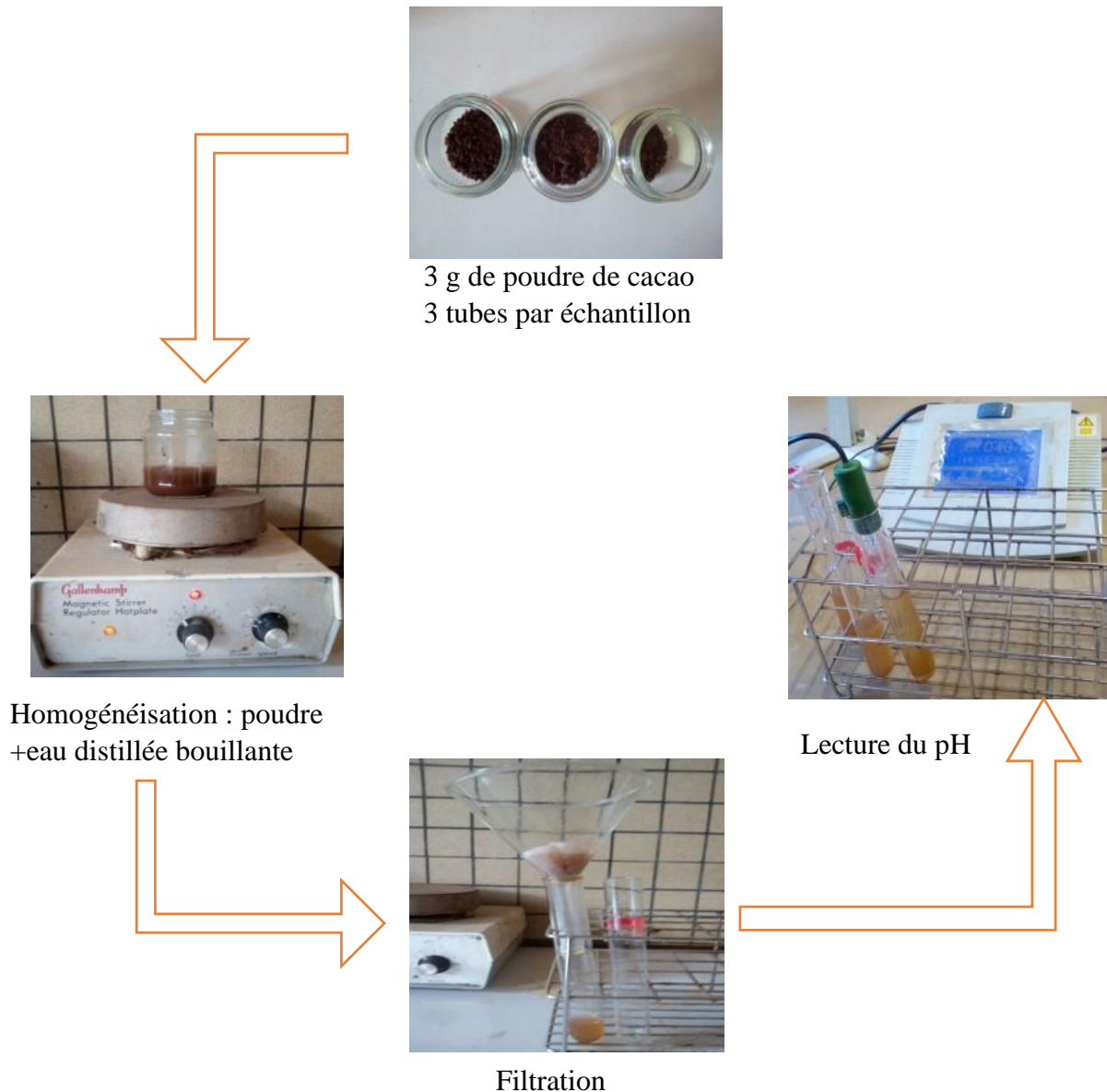


Figure 20: protocole illustratif de l'évaluation du pH (adapté de Hii *et al.*, 2009)

II.2.1.5.4 Indice de fermentation

La détermination de l'indice de fermentation nécessite au préalable une étape de délipidation de chacune des matrices.

II.2.1.5.4.1 Délipidation

La délipidation de la poudre de cacao/chocolat s'est faite suivant la méthode décrite par Niemenak *et al.* (2006). Cette méthode permet l'élimination des lipides de la poudre de cacao afin d'éviter toute interaction lors de l'extraction et du dosage des polyphénols (Fig. 21).

Une masse de 5 g de poudre de cacao ont été mélangés à 50 ml d'hexane dans un bocal. Le mélange a été broyé dans un mortier à l'aide d'un pilon. Le broyat a été introduit dans un filtre Büchner puis filtré sous vide. La filtration débarrasse la poudre de cacao des lipides fixés par l'hexane. La poudre humide délipidée a été séchée à l'air libre pendant deux heures.

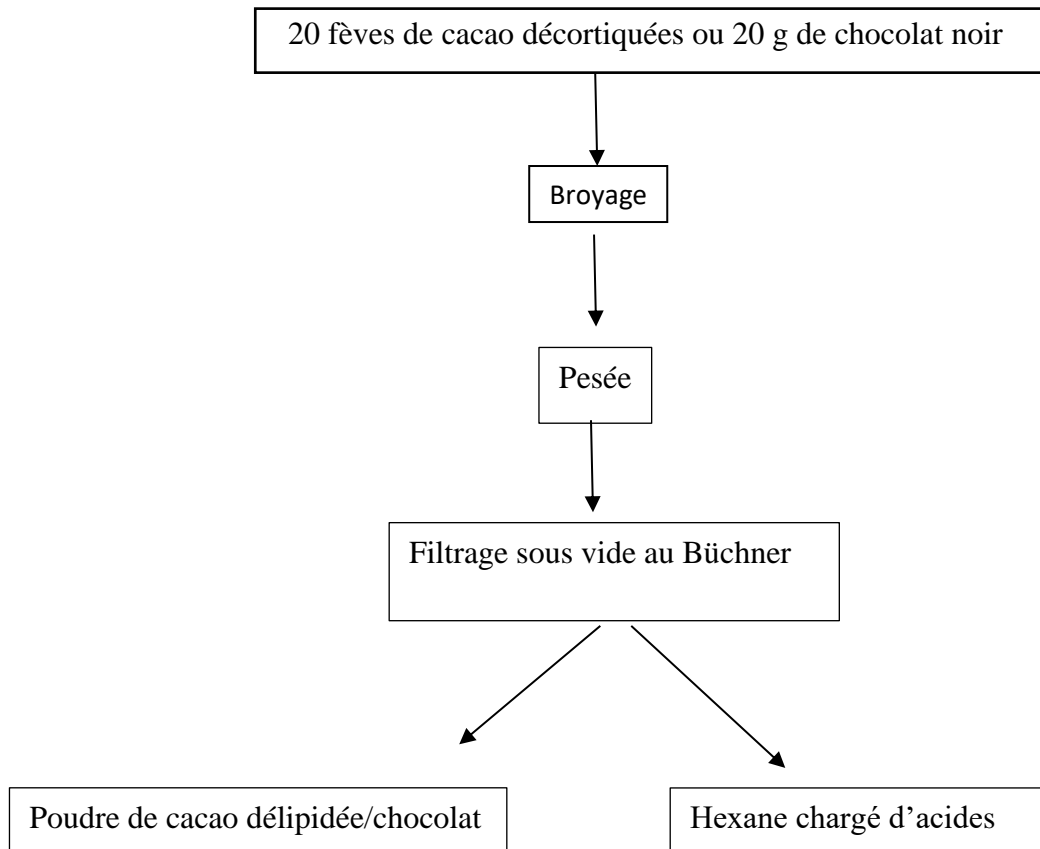


Figure 21: Protocole de délipidation de la poudre de cacao (adapté de Niemenak *et al.*, 2006)

II.2.1.5.4.2 Evaluation de l'indice de fermentation

L'évaluation de l'indice de fermentation a été faite selon la méthode décrite par Gourieva et Tserrivitinov (1979) et modifiée par Eyamo *et al.* (2016). L'étude du rapport des densités optiques d'un extrait CH₃OH/HCl (97:3 v/v) du cacao, mesuré respectivement à 460 nm et 530 nm, permet d'échelonner le degré de fermentation. 250 mg de poudre de cacao délipidée (Fig. 22) ont été pesés puis mélangés à 25 ml de CH₃OH-HCl 97:3 (v/v) ; la solution obtenue a été homogénéisée puis incubée à une température de 8°C pendant 18 à 20 heures. Par la suite, la solution a été filtrée à l'aide de papier filtre (Whatman n°4) et le filtrat recueilli dans des tubes à essai (Fig. 23) a été utilisé pour la lecture des absorbances respectivement à 460 et 530 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (JENWAY 6305). La lecture de chaque échantillon a été répétée trois fois. Le blanc était constitué de la solution de CH₃OH/HCl 97:3 (v/v).

La valeur de l'indice de fermentation s'obtient par le ratio : **DO (460 nm) /DO (530 nm)**

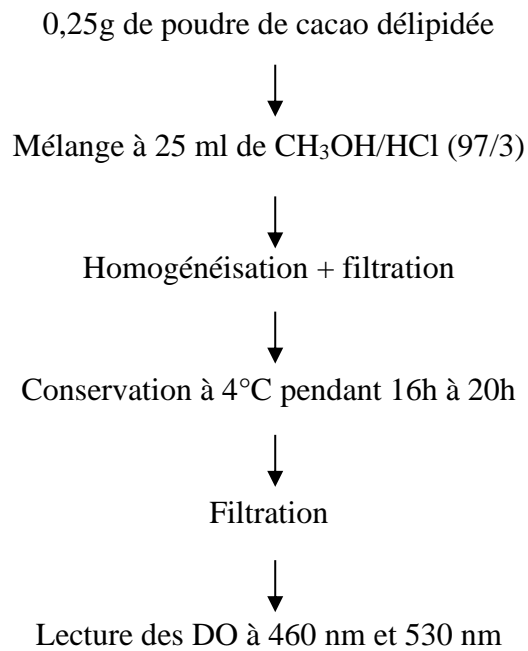


Figure 22: protocole d'évaluation de l'indice de fermentation (Eyamo *et al.*, 2016)

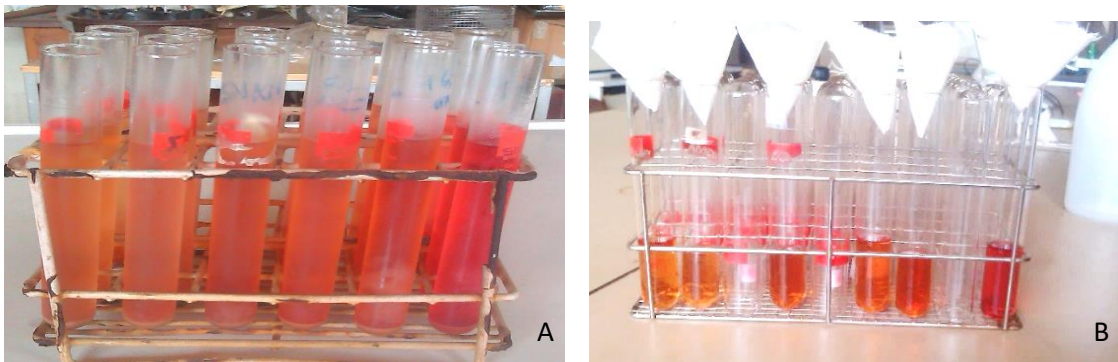


Figure 23: degré d'intensité des pigments de chaque hybride après traitements post-récoltes (A) et filtration en (B)

II.2.2 Composés bioactifs et précurseurs d'arômes

II.2.2.1 Composés bioactifs des fèves et chocolats

A la suite de ce travail, cinq hybrides connus et un cacao marchand ont été retenus car l'hybride SCA12×T79/467 et le cacao marchand 1 ont été rejetés par suite de leur score moyen obtenu avec les paramètres agronomiques et physicochimiques.

II.2.2.1.1 Production du chocolat

La production de chocolat noir s'est faite selon la méthode décrite par Ramli *et al.* (2006) avec quelques modifications. Pour les fèves fermentées/séchées de chaque hybride, une masse comprise entre 200 et 400 g a été utilisée pour produire le chocolat. Ces fèves ont été ensuite décortiquées puis torréfiées à 120 °C pendant 20 min. La composition adoptée pour chaque chocolat produit a été fixée comme suit : 67 % de poudre de cacao, 10 % de

beurre de cacao et 23 % de sucre en poudre grise (SOSUCAM). Après torréfaction, le cacao a été refroidi pendant 5 min à température ambiante. Après ce léger refroidissement, le cacao en débris torréfiés (Fig. 24 A) a été mis dans la chocolatière et broyé pendant 2 h à température ambiante (Fig. 24 C). Après broyage, la quantité équivalente de beurre de cacao (Fig. 24 B) a été ajoutée dans la chocolatière puis, 15 min plus tard le sucre en poudre a été additionné. Le mélange ainsi formé passera encore près de 40 min dans la chocolatière fonctionnante. Une fois le mélange bien effectué, la vitesse de remuage a été diminuée et le coulage du chocolat liquide (à tartiner) ainsi obtenu a été effectué dans les moules préalablement préparés. Ces moules ont été mis dans un réfrigérateur opérant à 4 °C pendant 24 h. Après cette période, le chocolat noir solide obtenu a été emballé dans du papier aluminium et conservé à 15 °C pour les analyses ultérieures.



Figure 24: production du chocolat par hybride (Cliché AKOA, 2018).

A (sortie du torréfacteur), B (beurre de cacao) et C (chocolatière en marche)

Le chocolat obtenu a subi une étape de délipidation telle que décrite plus haut et la poudre délipidée a servi pour l'extraction des composés phénoliques de cette matrice.

II.2.2.1.2 Extraction

L'extraction des polyphénols totaux a été effectuée suivant la méthode décrite par Boizot et Charpentier (2006) avec quelques modifications. La poudre délipidée de cacao ou du chocolat (500 mg) a été mélangée à 3 ml du $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}/\text{HCl}$ (80/19,5/0,5 ; v/v/v) puis le mélange a été homogénéisé à l'aide d'un vortex mixeur (Stuart SA7) et introduit dans des tubes à centrifuger (Centrifugeuse Eppendorf 5702 R). Après centrifugation (4500 g, 4° C, 15 min), le surnageant a été recueilli dans des tubes stériles (Fig. 25) ; le culot quant à lui a été retraité comme initialement pour obtenir un volume de 3 ml environ d'extrait brut. Les deux volumes de surnageant ainsi mélangés, ont constitué l'extrait brut de polyphénols totaux qui est conservé à -20° C (Fig. 26).

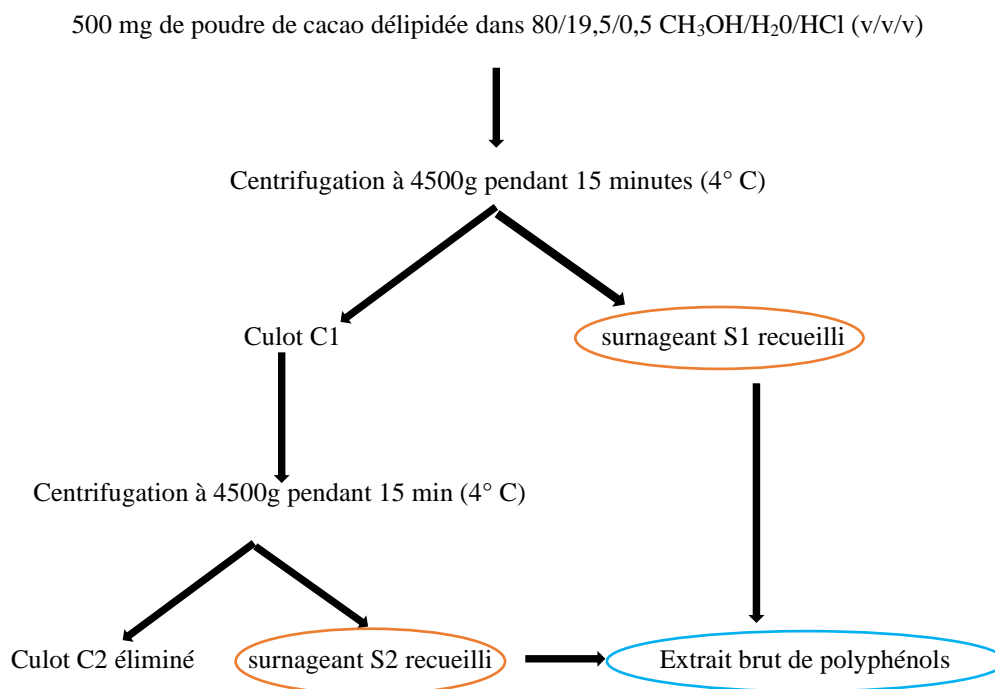


Figure 25: protocole d'extraction des polyphénols totaux (adapté de Boizot et Charpentier, 2006).



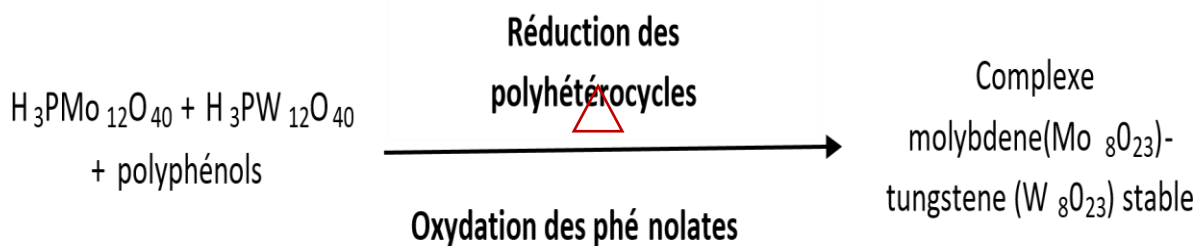
Figure 26: extraits bruts de polyphénols totaux (cliché AKOA, 2020)

II.2.2.1.3 Quantification

II.2.2.1.3.1 Dosage des Polyphénols totaux

La méthode utilisée pour doser les polyphénols est celle de Folin-Ciocalteu décrite en 1965 par Singleton et Rossi qui utilise le réactif de Folin-Ciocalteu (acide de couleur jaune) constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀). Ce mélange réduit lors de l'oxydation des phénols en milieu alcalin en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène qui absorbe avec un maximum à 760 nm (Ribereau-Gayon,1968). Le volume d'extrait phénolique (25 µl) dilué est ajouté à 3,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu. Le mélange a été agité à l'aide d'un

vortex mixeur pendant 3 min puis complété par 1 ml de Carbonate de sodium 20%. Le mélange obtenu a été incubé à 40° C pendant 20 min. La lecture de l'absorbance du complexe bleu formé a été effectuée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (JENWAY 6305) contre un blanc dans lequel l'extrait a été remplacé par le solvant d'extraction. Les teneurs en polyphénols totaux ont été exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique par g de poudre de cacao délipidée (EAG/g de pcd) et ont été déterminées à partir d'une droite d'étalonnage de l'acide gallique (Annexe 3).



II.2.2.1.3.2 Dosage des flavonoïdes totaux

La détermination de la teneur en flavonoïdes totaux a été faite selon la méthode de Bahorun *et al.* (1996) avec quelques modifications. Le trichlorure d'aluminium est utilisé pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits phénoliques de cacao ou de chocolat. Le principe repose la formation d'un complexe très stable entre le chlorure d'Aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des Flavonoïdes. À 100 µl d'échantillons ou standards (préparés dans le méthanol), a été ajouté 1 ml de la solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol). Après 10 minutes de réaction en l'absence de la lumière, l'absorbance de la solution jaune a été déterminée à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc dans lequel l'extrait est remplacé par le méthanol (80°). La quantité de flavonoïdes a été déduite à partir d'une droite d'étalonnage établie avec la quercétine et a été exprimée en milligramme d'équivalent quercétine par gramme de pcd (mg EQ/g pcd) (Annexe 4). Tous les essais ont été réalisés en tripliquet.

II.2.2.1.3.3 Dosage des Tannins condensés (Proanthocyanidines)

Le dosage des tannins condensés ou proanthocyanidines (PAs) a consisté à quantifier les PAs contenues dans chaque génotype de cacao *Trinitario* étudié et son chocolat correspondant. Le principe est basé sur la méthode du butanol-HCL, telle que décrite par Hagerman (2002) et Counet *et al.* (2004) avec de légères modifications (Fig. 27). C'est une méthode colorimétrique qui implique le clivage oxydatif des PAs avec le sulfate, faisant apparaître une coloration rouge proportionnelle à la quantité des PAs.

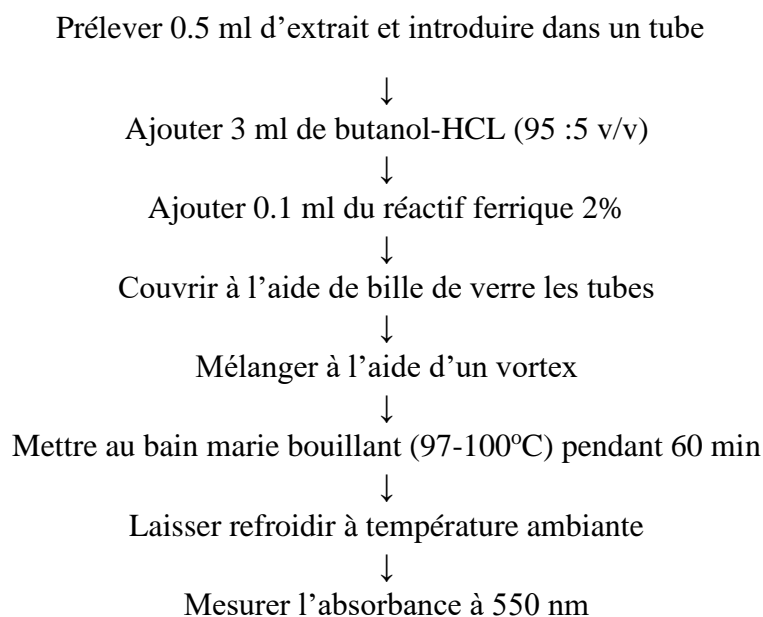


Figure 27: protocole de dosage des tannins condensés

Après refroidissement à température ambiante, l'absorbance a été lue à 550 nm contre un blanc. La teneur en proanthocyanidines a été exprimée en mg d'équivalent de catéchine par g d'échantillon ($\mu\text{gCAT/g}$) de matière sèche (Annexe 5)

II.2.2.1.3.4 Activité des polyphénoloxydases (PPO) des fèves

II.2.2.1.3.4.1 Extraction des protéines totales

Pour l'extraction des protéines totales des échantillons, deux méthodes ont été employées.

Méthode A

Après délipidation par l'hexane les poudres obtenues par broyage au mortier des fèves fermentées/séchées, 100 mg de chaque échantillon ont été mélangés à 5 ml du solvant ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}/\text{HCl}$; 80/19,5/0,5 v/v/v) puis centrifugé (centrifugeuse Eppendorf 5702 R) à 4 °C pendant 10 min à 3500g. Le surnageant obtenu a été récupéré puis le culot a été de nouveau mélangé à 5 ml du même solvant puis centrifugé dans les mêmes conditions. Le mélange des deux extraits obtenus a constitué la fraction phénolique de notre poudre de cacao délipidée. Le culot restant des deux centrifugations susmentionnées a été mélangé avec le tampon Sorensen (tampon phosphate 0,05 M, pH=7). La solution obtenue a été nouveau centrifugée dans les mêmes conditions et le surnageant obtenu a constitué l'extrait brut de protéines totales.

Méthode B

L'extraction est faite directement en utilisant le tampon Sorensen (tampon phosphate 0,05 M, pH=7) et un ajout de PVPP (0,01 %) dans le tampon. 100 mg de poudre délipidée issue du broyage des fèves fermentées/séchées ont été mélangés au tampon. Le mélange a été

centrifugé (centrifugeuse Eppendorf 5702 R) à 4 °C pendant 10 min à 3500 g et le surnageant obtenu a été récupéré. Le culot a été redissout avec le même tampon et centrifugé dans les mêmes conditions. Le surnageant obtenu a été additionné au premier et l'ensemble a été constitué l'extrait brut de protéines totales.

II.2.2.1.3.4.2 Evaluation de l'activité enzymatique des PPO

L'évaluation de l'activité des PPO a été réalisée dans les extraits issus des méthodes A et de la méthode B. Le principe de la réaction repose sur la conversion de deux fonctions (-OH) d'un polyphénol en un composé coloré appelé quinone. Cette activité PPO a été déterminée par spectrophotométrie telle que décrite par Van Kemmen et Broumer (1964) utilisant l'acide cinnamique (C=1 mg/ml) comme substrat. Le protocole utilisé est le suivant :

- introduire 100 µl d'acide cinnamique dans un tube à essai;
- ajouter 50 µl d'extrait enzymatique;
- attendre 3 min pour observer la coloration jaune apparaitre ;
- ajouter 1500 µl du tampon d'extraction 4 min après le mélange enzyme-substrat ;
- lire la densité optique 5 min après.

Les résultats ont été exprimés en $\Delta DO_{330nm}/min/g$ de matière sèche (MS).

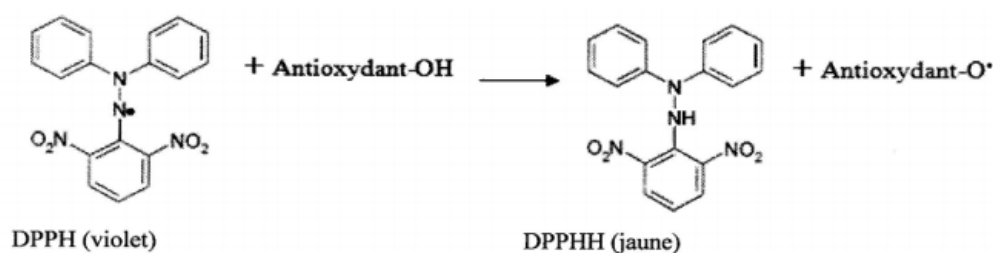
II.2.2.1.3.5. Tests antioxydants

II.2.2.1.3.5.1 Evaluation de l'activité antiradicalaire par le DPPH

L'activité antiradicalaire utilisant le DPPH de la fraction polyphénolique a été évaluée suivant le protocole de Katalinié *et al.* (2003).

Principe

C'est la réaction de réduction du radical DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) de couleur violette en un composé de couleur jaune par transfert de l'atome d'hydrogène pour former le DPPH-H stable (1,1-diphényl-2-picrylhydrazine). L'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre à une longueur d'onde fixée à 517 nm, est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire des composés contenus dans l'extrait à analyser.



Mode opératoire

Dans différents tubes à essai, ont été introduits :

- 10 µl de fraction polyphénolique aux concentrations 500, 200, 100 et 50 µg/ml ;
- 500 µl d'une solution méthanolique de DPPH 400 µM fraîchement préparée.

L'acide gallique et l'acide férulique aux concentrations 1, 10, 100 et 1000 µg/ml ont été utilisés comme standards. La solution contrôle était constituée de 500 µl d'eau distillée et 500 µl de la solution DPPH. Après 30 min d'incubation à température ambiante et à l'obscurité contre un blanc constitué de 10 µl de méthanol et 240 µl d'eau distillée, la lecture de la densité optique a été faite à 517 nm au spectrophotomètre UV-1605 Shimadzu.

L'activité antiradicalaire a été exprimée en pourcentage de radical DPPH• réduit et calculée comme suit : **Activité antiradicalaire (%) = [1- (DO échantillon 517/DO contrôle 517)] ×100**

II.2.2.1.5.2 Mesure de l'activité antioxydante par la méthode de FRAP (*Ferric Reducing/Antioxidant Power*)

Principe

Cette méthode illustre la capacité d'un antioxydant à réduire le fer à faible pH. En effet, en milieu acide, le complexe tripyridyltriazine ferrique (Fe^{3+} -TPTZ) est réduit en complexe tripyridyltriazine ferreux (Fe^{2+} -TPTZ) de couleur bleu intense absorbant à 593 nm et dont l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'antioxydants présents dans le milieu réactionnel (Benzie et Strain, 1996).

Mode opératoire

Dans un tube à essai, ont été introduits :

- 100 µl d'extrait de polyphénols de concentration 100 µg/ml ;
- 500 µl de réactif de FRAP.

L'acide gallique à gradient de concentration a été utilisé comme étalon. La densité optique a été déterminée à 593 nm au spectrophotomètre UV-1605 Shimadzu après 30 min d'incubation à température ambiante et à l'obscurité contre de l'eau distillée. L'activité réductrice du fer a été exprimée en µg équivalent d'acide gallique (EAG)/mg d'extrait sec (Annexe 6).

II.2.2.1.3.6 Identification et quantification des composés bioactifs individuels par UPLC-DAD-ESI(+)-MS TOF

Pour les analyses en chromatographie liquide (LC), les extraits de polyphénols ont été dilués au méthanol HPLC-grade à une concentration de 100 mg/ml puis filtrés par une membrane (syringe-filter-membrane) avant d'être introduit dans les vials (Fig. 28). Le volume de 5

μl de l'extrait méthanolique a été injecté dans la machine de HPLC (UPLC-DAD-MS Dionex Ultimate 3000 HPLC, Germany) pour l'analyse.

Des spectres de masses à haute résolution ont été obtenus en utilisant un spectromètre TOF (Bruker, Germany) équipé d'une source d'ionisation opérant à haute résolution (HRESI) et d'un détecteur UV-vis. Le spectromètre fonctionnait en utilisant une source d'ionisation opérant en mode positif (intervalle de masses : 100-1200, avec une fréquence de scan de 2,5 Hz) avec contrôle de gain automatique pour fournir une séparation performante de masses internes de 2 ppm de déviation. Le Formate de Sodium a été utilisé comme standard interne. Les spectres de masses ont été générés simultanément. Les conditions de l'expérimentation étaient les suivantes : voltage 4,5 kV et température 200 °C du conduit. L'azote était utilisé comme gaz nébuliseur (10 l/min). Le spectromètre était attaché à un système Ultimate 3000 HPLC (Thermo Fisher, USA) comprenant une pompe LC, une source UV balayant de 200-600 nm, un injecteur automatique (volume d'injection 5 μl) et une colonne stabilisée à 30 °C. La séparation était faite en utilisant une colonne Poroshell 120A RP-C18 (50x3.0 mm, 2.7 μm) avec un débit de H₂O (A)/(B) de 200 ml/min. Le gradient de la séparation dans la colonne était programmé comme suit : 5% de B en isocratique pour 0,5 min, suivi d'un gradient linéaire jusqu'à 95 % de B pour 7,5 min puis le système isocratique contenant 5 % de B a été maintenu pour 4 min. Le système était retourné dans ses conditions initiales (95 % A) pendant 1 min et une équilibration de l'appareil pour 1 min également.



Figure 28: tubes à HPLC (Vials) (A) contenant des extraits bruts de polyphénols des fèves ou standards et dispositif UPLC-DAD-ESI-MS TOF (B) (Cliché AKOA, 2020)

II.2.2.1.3.7 Caractérisation par spectres ultraviolet (UV) et de masse (MS)

La caractérisation des différentes molécules (flavanols, flavonols, acides phénolique, coumarines et méthylxanthines) a été faite considérant leur longueur d'onde, leur temps de rétention et surtout leur spectre de masse comparés à ceux des standards commerciaux disponibles à savoir : catéchine, théobromine, caféine, (-)-épicatéchine, acide caféique, quercétine, 7-acide férulique et acide chlorogénique

II.2.2.2 Précurseurs d'arômes des fèves

II.2.2.2.1 Acides aminés

II.2.2.2.1.1 Extraction des acides aminés

Les échantillons de chaque hybride (10 g) ont été écrasés en utilisant les mortiers en porcelaine. La pâte ou liqueur de cacao obtenue a été délipidée en utilisant l'Ether de pétrole. 1 g de liqueur a été mélangé avec 25 ml d'ether de pétrole et le mélange obtenu a été centrifugé pendant 10 min à 4° C. Après décantation, l'excès de solvant est éliminé. L'opération a été effectuée en dupliquet pour chaque échantillon et le culot a été séché à température ambiante pendant 1 h.

La poudre de cacao délipidée (10 mg) a été pesée et introduite dans les tubes à essai transparents. Chacun des échantillons a été premièrement traité avec 5 ml du mélange éthanol/eau/triméthylamine (2:2:1 ;v/v/v). 20 µl de la solution précédente ont été prélevés et introduits dans une autre série de tubes et ces derniers ont été évaporés. Après cette évaporation, 20 µl d'une autre solution constituée éthanol/eau/TEA/PITC (7:1:1:1 ; v/v/v/v) ont été ajoutés dans chaque tube. Il convient de préciser que la dérivation des extraits d'acides aminés libres, a été faite avec le phenylisothiocyanate (PITC) présent dans le mélange, afin de les rendre fluorescents et détectables par spectrophotométrie à 254 nm. Après 10 min, le mélange a été à nouveau évaporé sous vide pendant 1 h dans la chambre de culture. Dans chaque tube, les échantillons ont été redissous avec 200 µl d'une solution à 2 mmol/l de Na₂HPO₄ (95 %) ajustée à pH 7,4 avec une solution d'acide phosphorique à 10 % et l'acétonitrile (5 %) avant analyse. Un mélange d'acides aminés (2,5 µmol/ml, Pierce) plus la norleucine (25 µmol/ml) utilisée comme standard interne, a été préparé et dérivé dans les mêmes conditions. La calibration était faite entre 250 et 1500 pmol des solutions d'acides aminés devant être injectées.

II.2.2.2.1.2 Analyse par RP-HPLC

L'analyse de chaque échantillon d'acides aminés a été faite en chromatographie liquide haute performance en phase reverse (Alliance HT system, model 2795, Waters, Milford, MA, USA) équipée d'une colonne Picotag C18 (4 mm × 150 cm, Waters) (Fig. 29).

La détection a été faite à une longueur d'onde de 254 nm grâce à un détecteur d'absorbance (Waters model 2487). La colonne a été équilibrée à 40° C et à 1 ml/min avec le solvant A (acétate de sodium 0.14 mol/l, TEA 0.05% ajustée au pH 6.4 avec l'acide acétique glacial 94% acétonitrile 6%). 4 µl de chaque échantillon d'acides aminés dérivés, étaient injectés dans la colonne de l'appareil. L'éluion était faite par gradient exponentiel de 0 à 40 % du solvant B (40% H₂O, 60% acétonitrile) en 12 min. les résultats obtenus représentent une moyenne des trois injections effectuées.



Figure 29: tubes à HPLC (Vials) (A) contenant des extraits solubles d'acides aminés et appareil de HPLC (B) pour analyse des extraits ou standards (Cliché AKOA, 2021)

II.2.2.2.2 Sucres réducteurs

II.2.2.2.2.1 Extraction

Les sucres ont été extraits en utilisant une solution aqueuse légèrement acidifiée (Fig. 30). 100 mg de poudre de cacao ont été mélangés avec 1,5 ml d'eau pure acidifiée (0,002 M H₂SO₄) à 70 °C. La solution a été introduite dans l'ultra-son pendant 15 min à 70 °C. Le mélange a été homogénéisé en utilisant un vortex (Legallais, France) pendant 2 h à 60 rpm et 22 °C. Ensuite, une centrifugation (Sigma, France) à 15000g pendant 10 min a été effectuée. Le surnageant a été récupéré puis filtré (Fig. 31) par une membrane de 0,45 µm (Sortorius RC Minisart™, Thermo Fisher Scientific, England) et soumis à l'analyse par chromatographie haute performante à échange d'ions (HPIC, ICS-5000+DC, Thermo Fisher Scientific, USA).

100 mg de poudre de cacao dans 1,5 ml eau pure acidifiée à 70° C pendant 15minutes

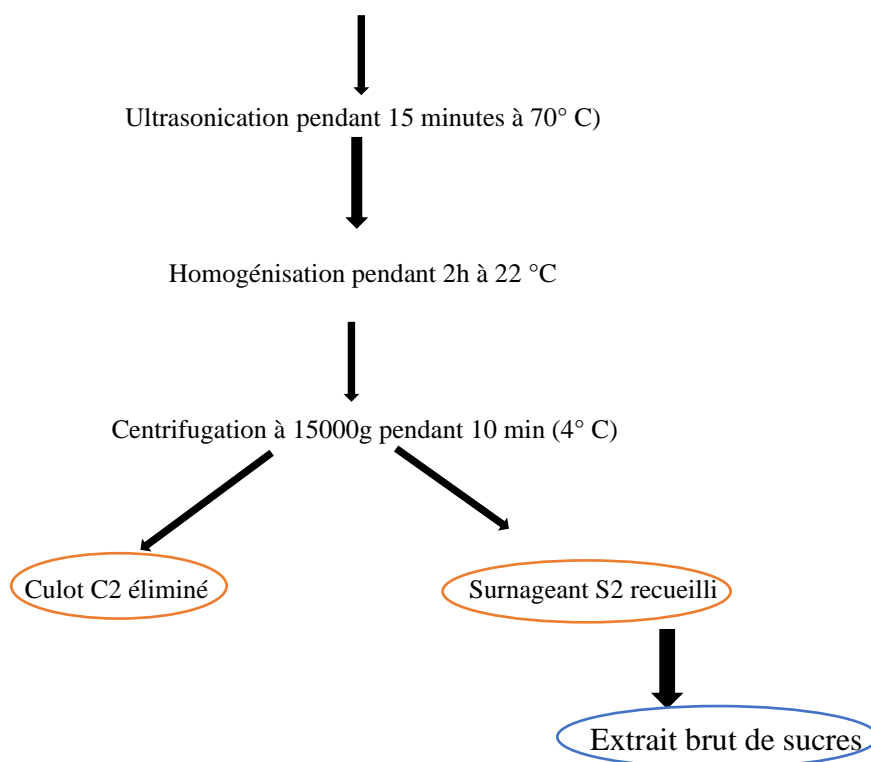


Figure 30: protocole d'extraction des Sucres



Figure 31: extraits de sucres (Cliché AKOA, 2020). (A) extraits de sucres dans les tubes eppendorf et extraits des sucres dans vials (B)

II.2.2.2.2 Analyse des sucres par HPIC-ED

L'analyse des sucres a été faite en mode isocratique (Dionex SP) en utilisant une chromatographie haute performance à échange d'ions. 10 μ l de chaque extrait ont été injectés automatiquement dans la colonne CarboPack PA210 Fast (4 \times 150 mm, 4 μ m) surmontée par une pré-colonne CarboPack PA210 Fast (4 μ m) (Thermo Fisher Scientific, USA) à 30 °C et à un débit de 0,8 ml/min. L'ensemble de l'appareil était constitué d'un injecteur automatique (Dionex AS-AP), d'un générateur d'éluant (Dionex ICS-5000+EG) et une pompe isocratique (Dionex SP). L'éluant était constitué d'une solution de KOH à trois différentes concentrations. Le gradient retenu était effectué comme suit : KOH 12 mM (éluant A) pour 20 min,

KOH 40 mM (éluent B) pour 10 min et KOH 100 mM (éluent C) pour 10 min. Le système était sous contrôle d'un ordinateur configuré par Thermo Dionex Chromeleon 6.8 Chromatography Data System, qui fournit le contrôle intégral du système, de l'acquisition des données et de leur gestion. L'identification de chaque molécule de sucre était effectuée par analogie du temps de rétention des standards commerciaux. Ces différents temps de rétention étaient enregistrés par un détecteur électrochimique (ICS-5000+ED). La quantification de chaque sucre ainsi obtenu était faite à partir de la surface du pic par la droite d'étalonnage obtenue à partir de chaque standard commercial. L'injection de chaque extrait était faite en dupliquet.

II.2.3 Analyse sensorielle des chocolats et caractérisation des composés volatils des fèves/chocolats

II.2.3.1 Analyse sensorielle des chocolats

L'analyse sensorielle des chocolats a été faite selon la méthode décrite par Liu *et al.*, 2014 légèrement modifiée. A cet effet, 13 descripteurs (ou variables) d'arômes ont été retenus et les scores présentés sous une échelle de 0 à 10 (Tableau III).

Un panel de 12 personnes (7 hommes et 5 femmes) qualifiées d'experts sur la perception et la description des arômes a été constitué au Laboratoire de Technologie Agro-Alimentaire (LTAA) de l'Institut de Recherche Agricole pour le Développement (IRAD). Un chocolat solide (Mambo) d'une société de la place (Chococam), a été d'abord offert à chaque paneliste pour s'approprier de la dégustation des échantillons inconnus jusque-là. Une bouteille d'eau minérale accompagnée d'une tasse pour rincer la bouche ont été ensuite mises à la disposition de chaque membre de l'équipe des goûteurs. Après avoir activé les fonctions rétro-nasales par le Mambo puis rincé la bouche à l'eau, un échantillon a été remis à chaque paneliste et de manière successive pendant 3 heures pour couvrir les six chocolats. Chaque goûteur a, à la fin, entouré la perception de l'arôme ou des arômes du chocolat et donné la note dans l'intervalle de 0 à 10. Les expériences ont été répétées deux fois à l'intervalle de deux semaines.

Notons que chaque échantillon de chocolat issu d'un hybride bref d'un cacao connu était codé afin de cacher l'identité et l'historique de l'échantillon. Les codes utilisés étaient des lettres de l'alphabet français. Chaque lettre correspondait à un échantillon parmi les six considérés. Les échantillons étaient emballés dans du papier aluminium suivant les mêmes conditions et la masse de 2 g a été arrêtée pour être offerte à chaque goûteur professionnel. Également, une fiche préalablement élaborée et avec le descriptif de chaque arôme, était remise à chaque goûteur.

Tableau III: descripteurs d'arômes de chocolats retenus, score et échelle de notation.

Descripteurs	sucré, fruité, boisé, torréfié, astringent, amer, acide, floral, sec, épicé, miel, végétal et chocolat				
Score	[0-2[[2-4[[4-6[[6-8[[8-10]
Echelle de notation	Nul	Faible	Moyen	Aromatique	Très aromatique

II.2.3.2 Identification et quantification des composés volatils par HS-SPME/GC-MS

II.2.3.2.1 Extraction des arômes par la méthode HS-SPME (Head Space-Solid Phase Micro-Extraction)

Principe

Le principe de concentration par SPME repose sur l'adsorption des composés chimiques sur une phase polymérique supportée par une fibre en silice (Fig. 32). En fonction de la tension de vapeur des composés recherchés, l'adsorption sur la fibre SPME peut être conduite soit en mode espace de tête (headspace), soit en mode immersion. En mode headspace, la fibre adsorbe les analytes d'intérêts dans la phase gazeuse située au-dessus de la matrice liquide ou solide. En mode immersion, la fibre est plongée dans la matrice liquide à analyser.

Mode opératoire

Les fèves de cacao fermentées/séchées ont été déulpées à l'aide d'un concasseur. Puis, les coques ont été ventilées pour rester avec des concassés de cotylédons. Ces derniers sont traités avec de l'azote liquide puis broyés à l'aide d'un Moulinex (The original grinder). Les chocolats ont subi cette dernière même étape. Après tamisage de la poudre pour obtenir la des grains 500 µm de diamètre, la poudre fine a été introduite dans les bocaux en glace et conservée à -20 °C pour des analyses ultérieures.

Les composants volatils de la poudre de cacao ou du chocolat ont été extraits par la méthode SPME à l'aide d'une fibre en silice recouverte de divinylbenzène/carboxène/polydiméthylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) stableflex, d'épaisseur 50/30 µm de la marque Supelco. Le protocole d'extraction détaillé a été le suivant :

- prélèvement de 2 g de poudre de chaque matrice (cacao fermenté/séché, cacao torréfié et chocolat) et introduction dans un vial hermétique de 10 ml ;
- ajout de 100 µl d'étalon interne (solution aqueuse de butan-1-ol à 0,62g/l (m/v)) ;
- fermeture hermétique du vial et dépôt dans le portoir ;
- équilibre de la fibre (60-120 min) ;
- introduction de la fibre SPME dans l'espace de tête pendant 60 min (temps de piégeage).

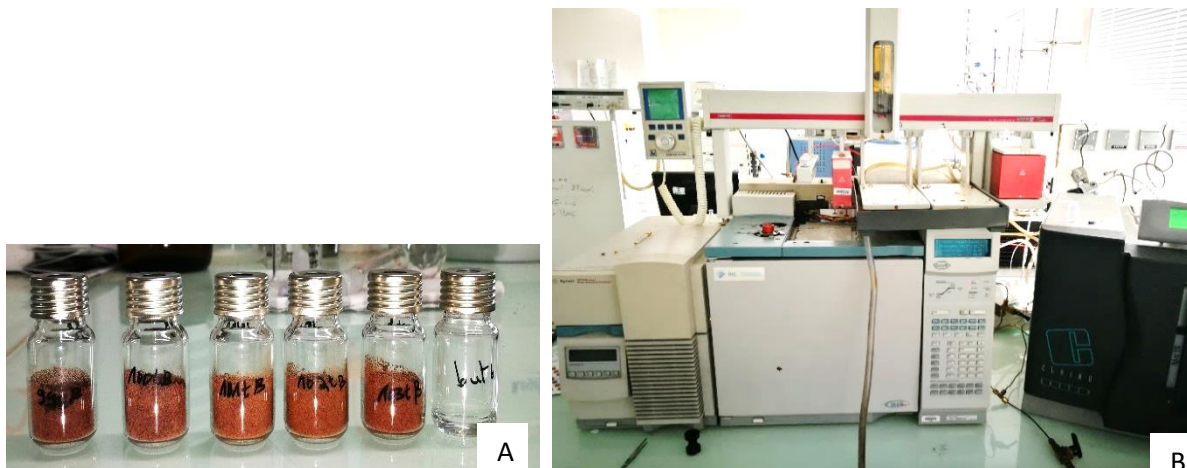


Figure 32: tubes (vials) hermétiquement fermés contenant les poudres des différentes matrices (A) et dispositif SH-SPME-GC-MS pour l'extraction et analyse des composés volatils (B)

II.2.3.2.2 Analyse GC-MS sur colonne polaire

Dans le cas d'une spectrométrie de masse, la détection est basée sur le rapport masse/charge d'un analyte. Les molécules d'analytes dans la phase vapeur sont bombardées avec un faisceau d'électrons à haute énergie. Les ions positifs produits par le bombardement sont séparés dans un champ magnétique sur la base de leur rapport masse/charge (m/z). Le signal émis par les ions à partir du spectre est enregistré et est présenté comme un graphique tracé par ordinateur.

Dans notre cas, les composants piégés sur la fibre sont désorbés (4 min) dans l'injecteur en mode splitless (250 °C) d'un chromatographe à phase gazeuse (6890 GC, Agilent Technologies) couplé à un spectrophotomètre de masse (5973 MS, Agilent Technologies). Les composants volatils sont séparés par une colonne capillaire de 60 mm de long et 320 μm de diamètre et un film d'épaisseur 0,25 μm (SPB-5, Agilent). Le gaz vecteur est l'hydrogène avec un débit de 0,8 ml/min. Le four du CG est initialement à 45 °C et le pas de programmation de 4 °C/min, jusqu'à atteindre 250 °C suivi d'un isotherme à 250 °C pendant 30 min. Les composants sont fragmentés par impact électronique (70 eV) et le spectre de masse de ces adduits est enregistré.

Les composants sont identifiés en comparant : leur spectre de masse avec ceux de la base de données commerciales (NIST 14) et la valeur de leur indice de rétention calculé (IR), à celle de la littérature.

II.2.4 Analyses statistiques

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) suivant le test Tukey à $P \leq 0,05$ pour la comparaison des moyennes au moyen du logiciel SPSS version

25.0 et XLSTAT 2021 pour Windows. Les analyses en composantes principales (ACP) ont été effectuées pour décrire les comportements entre les différents paramètres étudiés au moyen du logiciel SPAD version 5.5 et XLSTAT 2021 (Addinsoft, Paris, France) pour Windows. Les tests de corrélation entre les différents paramètres selon Pearson ont également été utilisés.

CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

III.1 Résultats

III.1.1 Impact de l'origine génétique du pollen

III.1.1.1 Compatibilité

Les résultats présentés par groupe de cacao ont montré des différences selon les paramètres considérés. Pour le même nombre de pollinisations, les pourcentages de nouaison (qui indiquent majoritairement le degré de compatibilité entre clones c'est-à-dire l'aptitude à la combinaison), au sein des clones *Trinitario* ont été très faibles voire nuls (Tableau IV). Toutefois, ces pourcentages de nouaison ont été très importants entre les clones *Trinitario* et *Forastero* et se situent entre 63 et 88%. Entre les *Forastero*, le meilleur résultat des pollinisations a été obtenu entre T79/467 et SCA12 (87%). Les différences de pourcentages de nouaison et d'obtention des cabosses mures ont également été observées. Ces différences de pourcentages entre différents clones du sous-groupe I ont été négligeables et assez importants dans les autres sous-groupes.

Tableau IV: résultats de 300 pollinisations manuelles durant les années 2017 et 2018

Groupes	Croisements	Nouaison (%)	Cabosses mures récoltées (%)
Intra-groupe I	SNK16×ICS40	00	00
	ICS40×SNK16	03	03
	ICS40×SNK13	18	15
	SNK13×ICS40	00	00
	SNK13×SNK16	05	00
	SNK16×SNK13	03	00
	ICS40 ×SNK413	05	04
	SNK413 ×ICS40	13	13
Inter-groupe	SNK10×IMC67	75	71
	IMC67×SNK10	77	70
	ICS40×SCA12	83	81
	SCA12×ICS40	88	83
	SNK16×T60/887	79	75
	T60/887×SNK16	81	72
	ICS40×UPA134	80	73
	UPA134×ICS40	70	55
	SNK16×SCA12	63	60
	SCA12×SNK16	78	63
	SNK13×SCA12	64	51
	SCA12×SNK13	82	75
	SNK16×UPA134	67	62
	UPA134×SNK16	78	65
	SNK10×T79/501	67	53
T79/501×SNK10	72	69	
Intra-groupe II	T79/467×SCA12	87	85
	SCA12×T79/467	84	82
	SCA12×UPA134	85	73
	UPA134×SCA12	83	69

III.1.1.2 Traits agronomiques

III.1.1.2.1 Taille et épaisseur moyennes des cabosses par hybride

La comparaison de valeurs morphologiques liées à la cabosse a été faite sur la base de la nature des parents femelles (en début du croisement) et des parents mâles (en fin de croisement). Les données de la longueur de la cabosse (LC) obtenues n'ont pas présenté de différence significative ($P \leq 0,05$) entre les hybrides du clone femelle SNK10. La même observation a été faite avec les données obtenues sur l'épaisseur du cortex (EC) chez les clones femelles SNK10 et SCA12. En revanche, les clones utilisés comme mâles à savoir SCA12, UPA134 et T60/877 ont entraîné des différences aussi bien pour la longueur de la cabosse que l'épaisseur du cortex chez les clones femelles (Tableau V).

Sur le même pied femelle ICS40, les cabosses hybrides ICS40×SCA12 ont des LC plus importantes que celles des hybrides ICS40×UPA134. De même, l'EC de l'hybride SNK16×T60/877 a été plus importante que celle de l'hybride SNK16×SCA12.

Tableau V: longueurs et épaisseurs moyennes des cabosses par hybride

	Paramètres évalués	
	LC (cm)	EC (cm)
ICS40×SCA12	27,07±1,37 ^c	1,68±0,51 ^b
ICS40×UPA134	25,33±1,42 ^b	1,55±0,36 ^{ab}
SNK16×T60/877	26,87±1,71 ^{bc}	1,88±0,44 ^c
SNK16×SCA12	24,16±4,66 ^b	1,37±0,75 ^a
SCA12×ICS40	24,66±1,64 ^b	1,41±0,24 ^a
SCA12×T79/467	22,11±1,34 ^a	1,33±0,44 ^a
SNK10×IMC67	20,87±1,41 ^a	1,47±0,49 ^a
SNK10×T79/501	20,67±1,58 ^a	1,44±0,54 ^a

Les chiffres avec la (les) même (s) lettre (s) dans la même colonne ne sont pas significatifs ($P \leq 0,05$)

LC : longueur de la cabosse

EC : épaisseur du cortex

III.1.1.2.2 Nombre moyen de fèves par cabosse de chaque hybride

Mis à part les cabosses des hybrides du clone femelle ICS40, les autres ont montré une variation significative ($P \leq 0,05$) en fonction du nombre moyen de fèves par cabosse. De manière générale, les cabosses des hybrides du clone femelle SCA12 ont présenté le plus grand nombre de fèves et celles de ICS40 le plus petit (Tableau VI).

Tableau VI: variation du nombre moyen de fèves par cabosse hybride

	Paramètres évalués
	Nombre moyen de fèves/hybride
ICS40×SCA12	38,90±1,20 ^a
ICS40×UPA134	38,60±3,50 ^a
SNK16×T60/877	45,40±2,30 ^{bc}
SNK16×SCA12	41,10±1,70 ^{ab}
SCA12×ICS40	47,60±1,40 ^{cd}
SCA12×T79/467	44,70±2,20 ^b
SNK10×IMC67	41,80±2,40 ^b
SNK10×T79/501	37,60±3,50 ^a

Les chiffres avec la (les) même (s) lettre (s) ne sont pas significatifs ($P \leq 0,05$)

III.1.1.3 Analyse physico-chimique des fèves

III.1.1.3.1 Variation de la masse des fèves

Chez les hybrides ayant pour clone femelle ICS40, une différence significative ($P < 0,05$) de la masse des fèves (aussi bien à l'état frais qu'à l'état sec) a été observée. Les deux cacaos marchands provenant de deux localités distinctes du Cameroun ont montré des valeurs de masses de fèves sèches significativement différentes (Fig. 33).

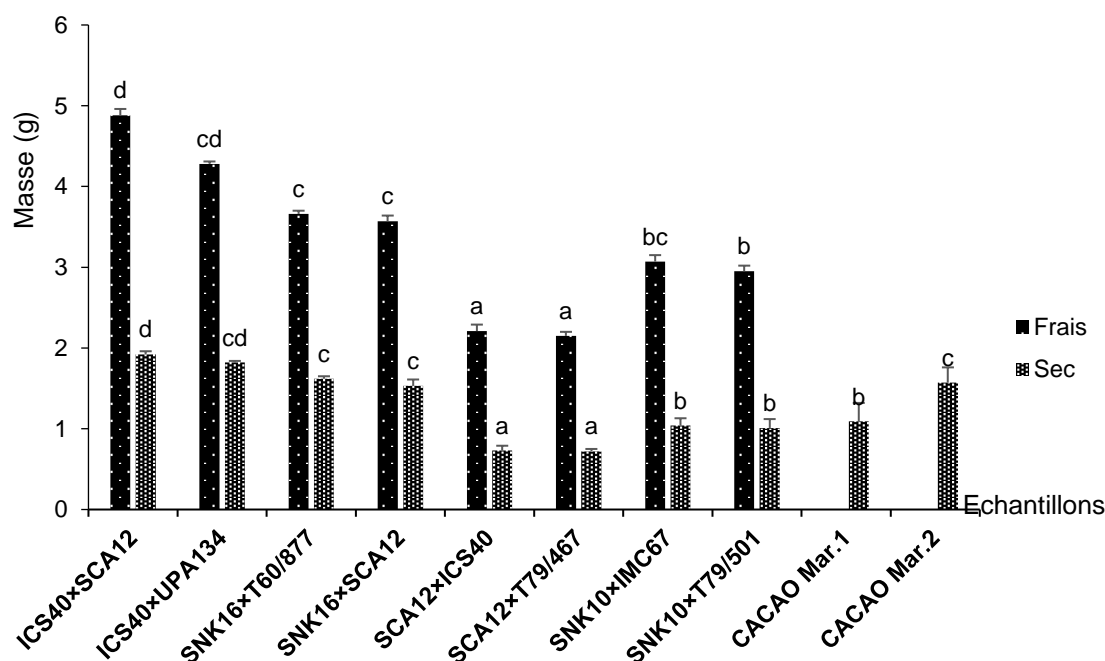


Figure 33: masses moyennes de fèves à l'état frais et à l'état sec par échantillon. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey).

III.1.1.3.2 Test à la coupe ou *Cut-test*

Les pourcentages des différentes couleurs du test à la coupe ont varié très peu au sein des individus d'un même parent femelle. On a obtenu par exemple 36% de fèves brunes dans les deux hybrides du clone femelle SNK16. Le pourcentage de fèves blanches chez les hybrides ICS40 ainsi que les SNK16 ont été quasi-similaires après six jours de fermentation. En revanche, parmi les trois hybrides *Forastero* considérés, les pourcentages des fèves blanches ont été pratiquement identiques entre les hybrides ICS40 et SNK16 ce qui a été différent chez les hybrides SNK10 où ce pourcentage a été assez faible (Fig. 34). Les résultats du *cut-test* ont montré des différences entre les hybrides avec les parents femelles différents dans les mêmes conditions. Les pourcentages des couleurs brunes ont été très faibles chez les cacaos marchands (1-3 %) (Fig. 35). De même, les pourcentages des fèves pourpres et violettes chez les hybrides SCA12, SNK10 et cacaos marchands ont été assez importants.

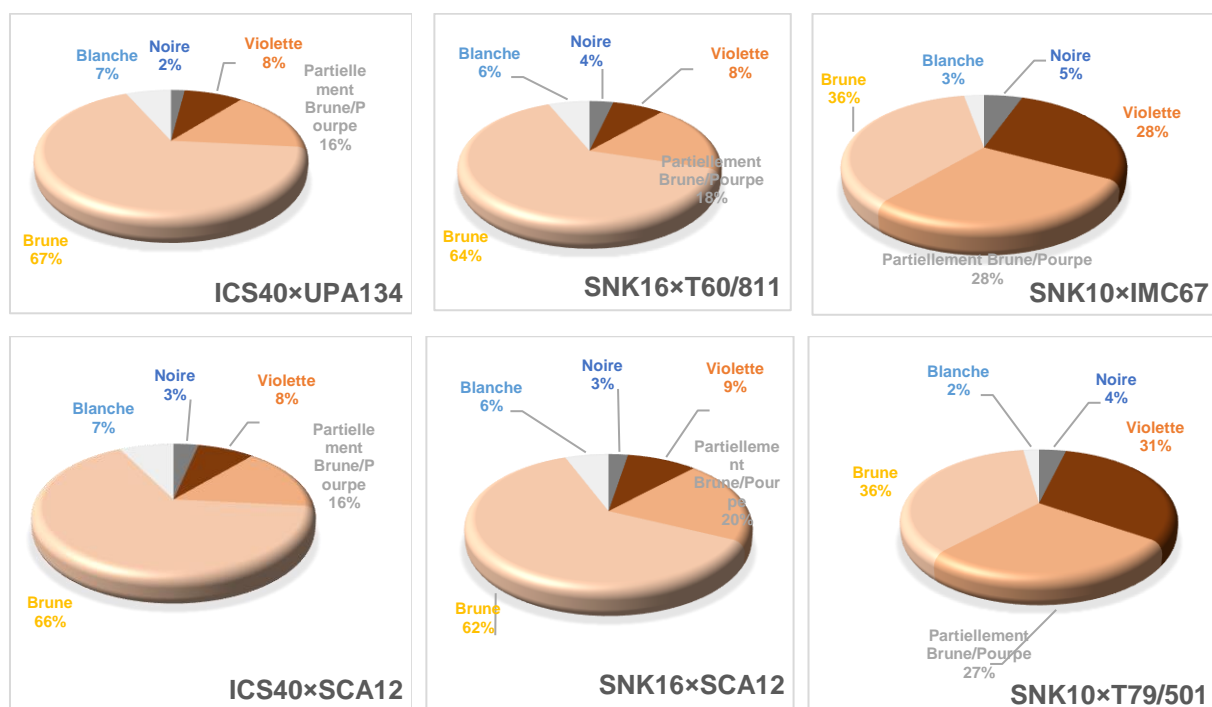


Figure 34: pourcentage de différentes couleurs des fèves chez les hybrides de parent femelle *Trinitario*

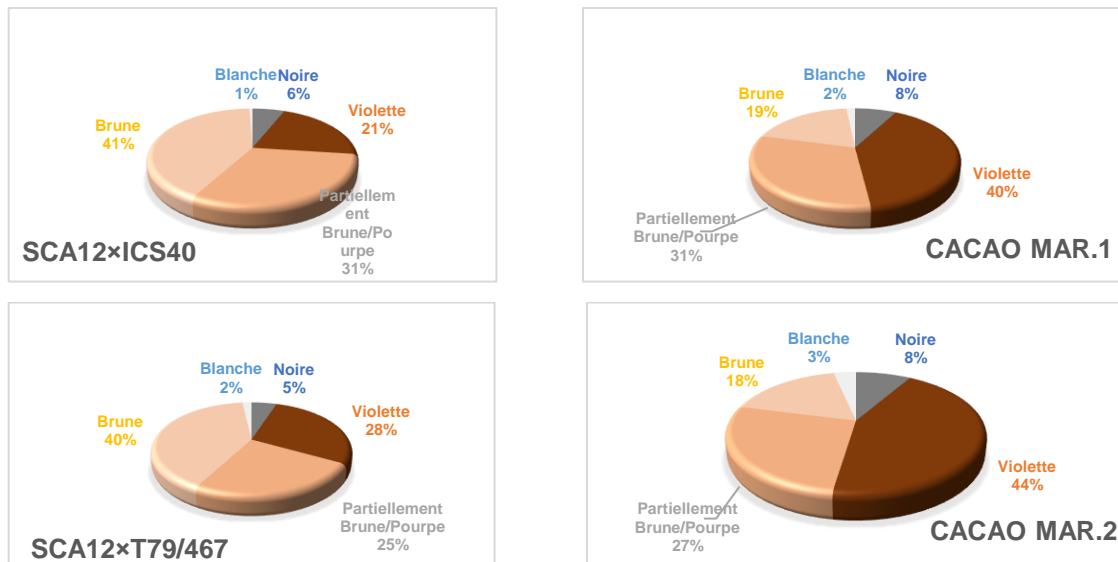


Figure 35: pourcentages de couleurs du cut-test chez les hybrides de parents femelles *Forastero* et cacaos marchands

III.1.1.3.3 Variation du pH

Les valeurs du pH ont montré une forte variation entre les génotypes totalement différents. Cependant, les valeurs du pH sont restées pratiquement sans différence significative au sein des génotypes avec le même clone femelle dans les mêmes conditions d'analyse. Les pH des cacaos marchands ont été plus élevés que ceux des hybrides produits. Les hybrides du même clone femelle ICS40 ont présenté les plus faibles valeurs du pH des fèves fermentées et séchées (entre 5, 2 et 5,5) (Fig. 36).

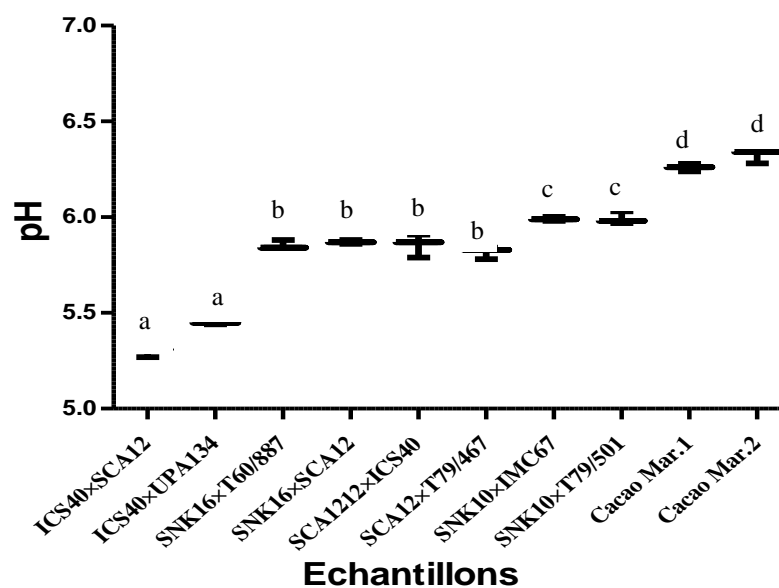


Figure 36: variation du pH après traitements post-récoltes en fonction des échantillons. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey).

III.1.1.3.4 Indice de fermentation

Il est déjà connu de manière classique que les indices de fermentation c'est-à-dire le rapport des phénols oxydés/phénols non oxydés est un indicateur majeur du degré de fermentation des fèves de cacao. Les valeurs des indices de fermentation (IF) obtenues ont présenté une variation remarquable en fonction de l'hybride considéré. 60 % des fèves fermentées/séchées ont montré des IF ≥ 1 ce qui témoigne de leur bonne fermentation contrairement aux deux cacaos marchands ainsi que les hybrides du clone femelle SNK10 (tableau VII).

Tableau VII: valeurs moyennes des indices de fermentation

	<u>Paramètres évalués</u>
	<u>Indice de fermentation/hybride (D.O460/530)</u>
ICS40×SCA12	1,14±0,09 ^{ab}
ICS40×UPA134	1,49±0,06 ^c
SNK16×T60/877	1,14±0,02 ^{ab}
SNK16×SCA12	1,27±0,07 ^b
SCA12×ICS40	1,35±0,10 ^{bc}
SCA12×T79/467	1,19±0,05 ^{ab}
SNK10×IMC67	0,90±0,03 ^a
SNK10×T79/501	0,89±0,09 ^a
Cacao Mar.1	0,78±0,07 ^a
Cacao Mar.2	0,83±0,06 ^a

Les valeurs suivies de la même lettre dans une colonne ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$

Des corrélations significatives ont été observées entre les paramètres agronomiques et physicochimiques. Le tableau VIII montre une corrélation négative mais significative ($P \leq 0,05$) entre le *cut-test* score et le pH (-0,739). De plus, une corrélation significative et positive a été obtenue entre la masse moyenne d'une fève sèche (MM1FS) et la masse moyenne d'une fève fraîche (MM1FF) de même que la longueur de la cabosse avec la masse moyenne d'une fève (Tableau VIII).

Tableau VIII: corrélation entre paramètres agronomiques et physicochimiques.

	LC (cm)	EC (cm)	Nombre fèves	MM1FS (g)	MM1FF (g)	IF	pH	Cut-test score
LC (cm)	1							
EC (cm)	0,696	1						
Nombre fèves	0,148	-0,002	1					
MM1FS (g)	0,711*	0,655	-0,513	1				
MM1FF (g)	0,632	0,615	-0,617	0,973**	1			
IF	0,584	-0,033	0,222	0,282	0,162	1		
pH	-0,802*	-0,364	0,173	-0,683	-0,685	-0,661	1	
Cut-test score	0,839**	0,541	-0,231	0,912**	0,818*	0,558	-0,739*	1

* Corrélation est significative à 0,05

** Corrélation est significative à 0,01

MM1FS : masse moyenne d'une fève sèche

MM1FF : masse moyenne d'une fève fraîche

LC : longueur de la cabosse

EC : épaisseur du cortex

IF : indice de fermentation

III.1.2 Diversité biochimique des cacaos et/ou chocolats

III.1.2.1 Diversité des composés bioactifs

III.1.2.1.1 Composés phénoliques

Les résultats ont montré une forte teneur des composés phénoliques totaux chez les hybrides SNK10×IMC67 et ICS40×SCA12 dans les voisinages de 50 mg/g d'équivalent d'acide chlorogénique (EAC) de matière sèche délipidée (MSD). L'hybride SCA12×ICS40 a présenté de manière opposée, la plus petite teneur des polyphénols (34,66 mg/g EAC) (Fig.37). De manière générale, les résultats obtenus ont montré une variation de la teneur en composés phénoliques propre à chaque génotype. Deux hybrides ayant le même parent femelle ont présenté une différence significative ($P < 0,05$) en termes de teneurs en polyphénols.

Le chocolat obtenu à partir de l'hybride SNK10×T60/887 a présenté la plus faible teneur en composés phénoliques totaux. Ce dernier a été suivi par les deux chocolats issus respectivement de l'hybride SCA12×ICS40 et du cacao Marchand (Fig. 37). Les plus fortes teneurs en polyphénols ont été obtenues avec les chocolats des hybrides ICS40. Une diminution de la teneur en polyphénols a été observée des fèves fermentées séchées jusqu'au chocolat.

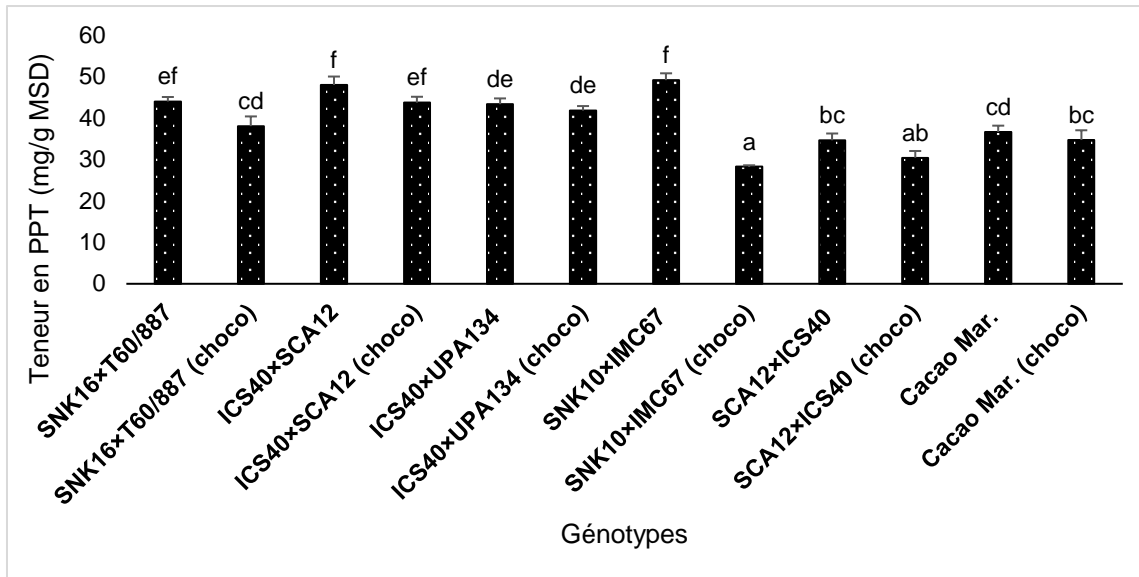


Figure 37: teneur moyenne des polyphénols totaux (PPT) libres en fonction des échantillons. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey).

Matière Sèche Délipidée (MSD)

Tableau IX: pourcentages de polyphénols dans chaque génotype

SNK10xIMC67	SCA12xICS40	ICS40xUPA134	ICS40xSCA12	CACAO Mar	SNK16xT6/887
4,91	3,04	4,13	4,80	3,47	4,00

Les résultats mettant en exergue la masse et la teneur en polyphénols ont montré que dans les mêmes conditions, plus la masse d'une fève est importante plus elle a tendance à accumuler les polyphénols et vice versa (Fig. 38). Ainsi l'hybride SNK10xIMC67 est celui qui concentre le plus de polyphénols (4,91 %) tandis que l'hybride SCA12xICS40 en contient le moins (3,04 %) (Tableau IX).

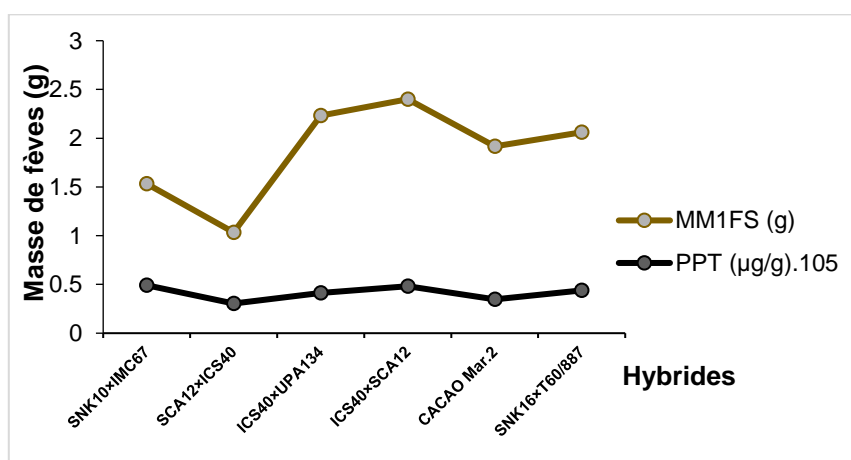


Figure 38: variation des polyphénols en fonction de la masse des fèves des différents hybrides
PPT : polyphénols totaux ; MM1FF : masse moyenne d'une fève fraîche

III.1.2.1.2 Flavonoïdes totaux

Concernant les flavonoïdes, les valeurs obtenues ont été comprises entre 14 et 45 mg/g d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche délipidée. L'hybride SNK10×IMC67 a montré la plus grande teneur (39,02 mg/g). Tandis que l'hybride SCA12×ICS40 s'est distingué par la plus faible valeur (25,75 mg/g). Les teneurs en flavonoïdes sont restées assez fortes chez tous les cacaos et chocolats analysés. Toutefois, les chocolats noirs ont montré des valeurs plus faibles en flavonoïdes totaux que leurs cacaos correspondants (Fig. 39).

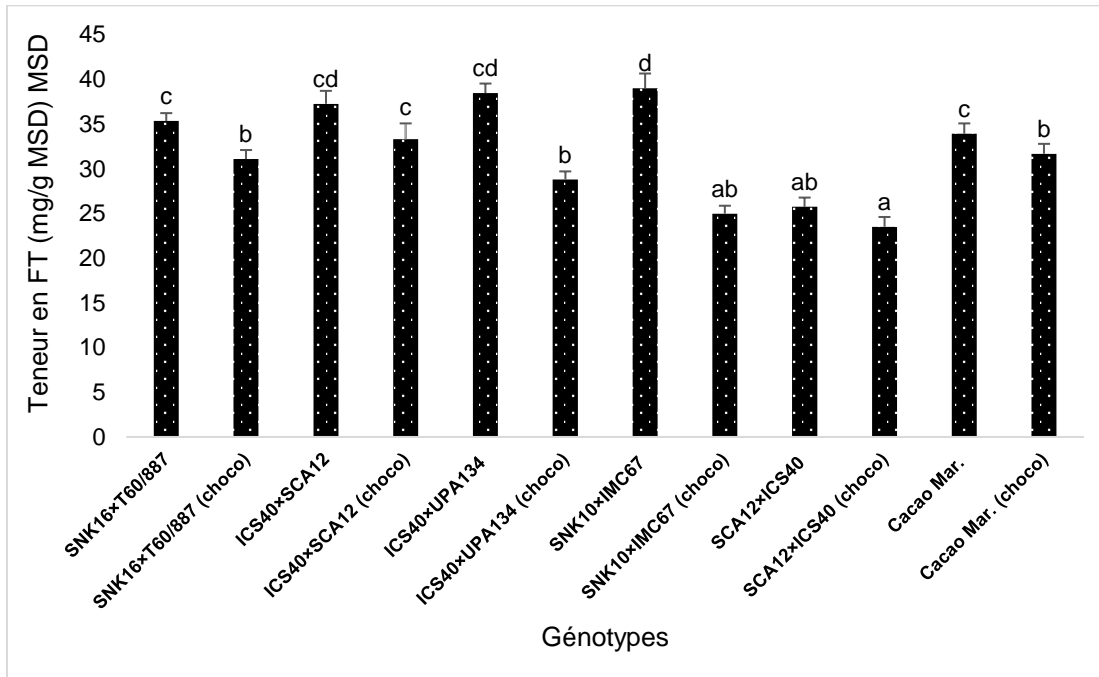


Figure 39:: teneur moyenne des flavonoïdes totaux (FT) en fonction des génotypes. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey).

Matière Sèche Délipidée (MSD)

III.1.2.1.3 Tannins condensés ou Proanthocyanidines

Tous les hybrides et leurs chocolats ont formé deux blocs en ce qui concerne leur valeur en tannins condensés. Les deux hybrides avec pour parent femelle ICS40 et l'hybride SNK16×T60/887 se sont distingués avec des valeurs en tanins condensés à 20 mg d'équivalent de catéchine par g de matière sèche délipidée (Fig.40).

Les chocolats des hybrides SCA12×ICS40 et ICS40×UPA134 ont aussi présenté des valeurs à 20 mg/g.

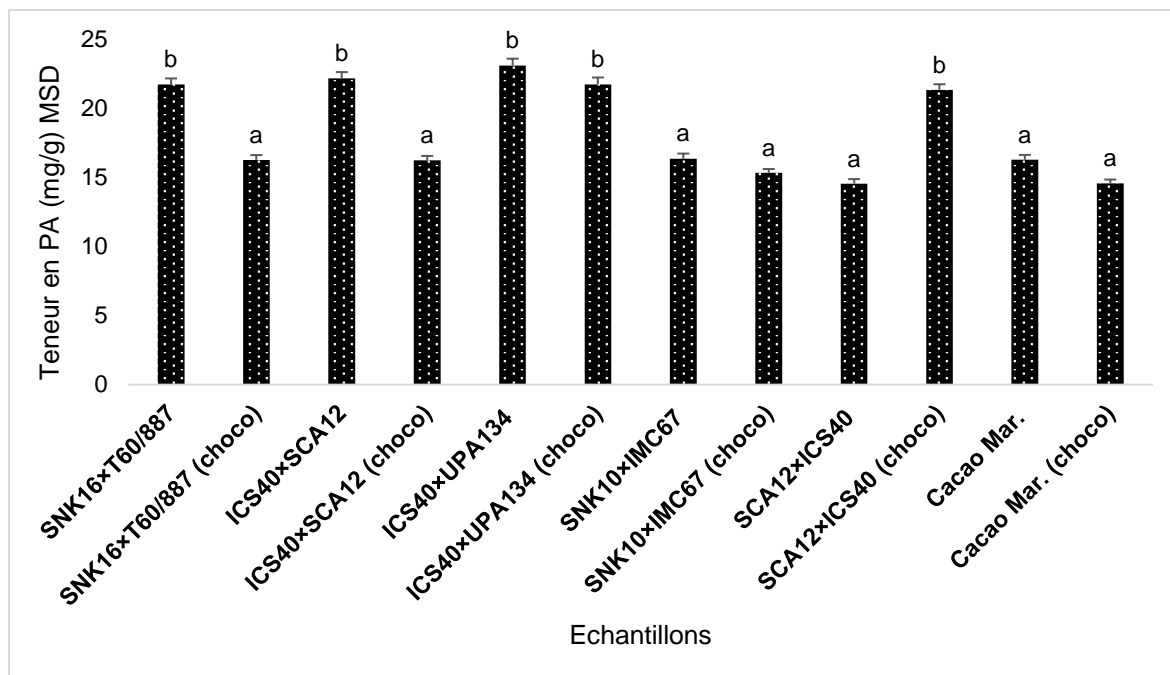


Figure 40: teneur moyenne des proanthocyanidines (PA) en fonction des hybrides. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey). Matière Sèche Délipidée (MSD)

III.1.2.1.4 Activités enzymatiques polyphénol oxydases (PPO)

Les résultats obtenus avec les enzymes de la famille des polyphénol oxydases (PPO) ont montré des activités bien différentes. L'activité PPO a été plus accentuée chez l'hybride SCA12xICS40 suivi du cacao marchand. En revanche, cette activité a été moins intense chez les quatre autres hybrides (Fig. 41). Les deux hybrides du clone femelle ICS40 ont présenté des activités quasi-similaires avec une légère démarcation forte de l'hybride ICS40xUPA134.

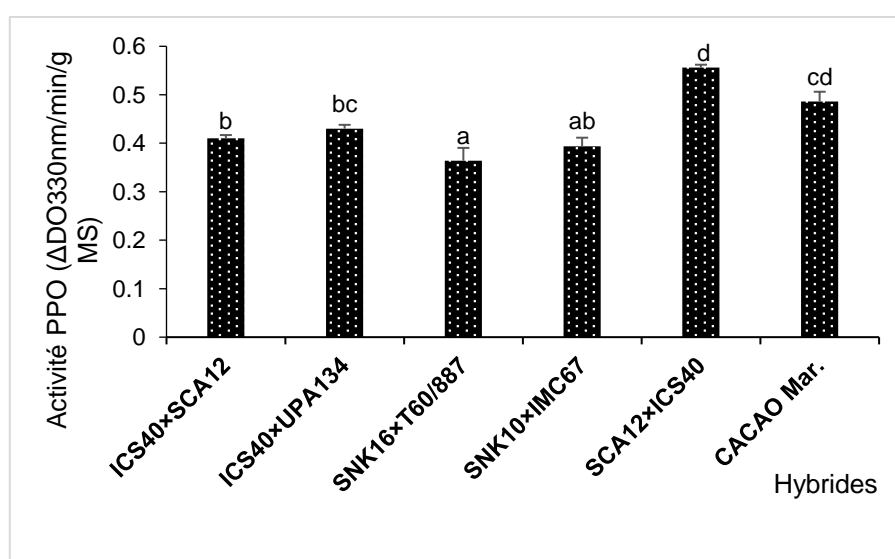


Figure 41: activité des polyphénoloxydases chez les fèves de cacao des six échantillons. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey).

III.1.2.1.5 Tests antioxydants avec les chocolats

III.1.2.1.5.1 Activité antioxydante

Les activités antioxydantes évaluées par le réactif de fer (FRAP) ont montré des variations fortes entre les différents chocolats (Fig. 42). Les chocolats des génotypes SNK16×T60/887 et SCA12×ICS40 ont montré les plus fortes activités de réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} du réactif de FRAP. Cependant, les chocolats des hybrides ICS40 ont montré des résultats relativement bas comparés aux autres chocolats.

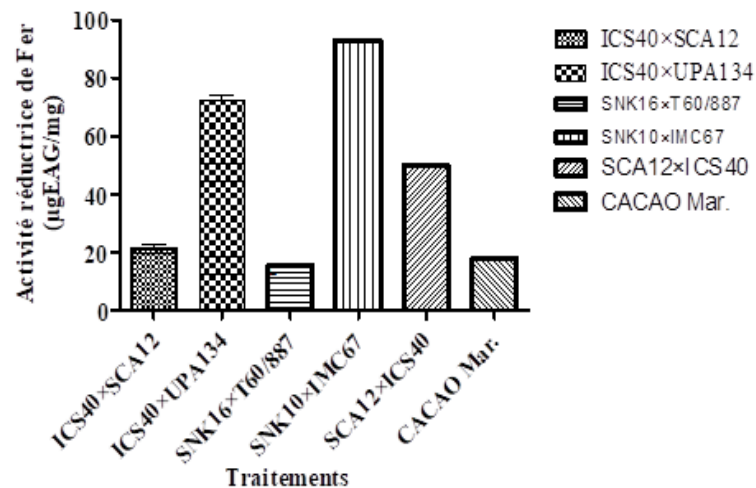


Figure 42: activité réductrice du fer par échantillon de chocolat.

III.1.2.1.5.2 Activité antiradicalaire

Les activités antiradicalaires à partir du réactif de DPPH ont été observées dans tous les échantillons. Une croissance logarithmique du pourcentage d'inhibition du DPPH (α -diphenyl- β -picrylhydrazyl) des différents chocolats a été observée entre 50-200 $\mu\text{g/g}$ de chaque échantillon. L'activité antiradicalaire est restée pratiquement stable entre les concentrations de 200-500 $\mu\text{g/g}$ des échantillons. Le chocolat de l'hybride SNK16×T60/887 a montré une activité antiradicalaire similaire à celle du standard (acide gallique) (Fig. 43).

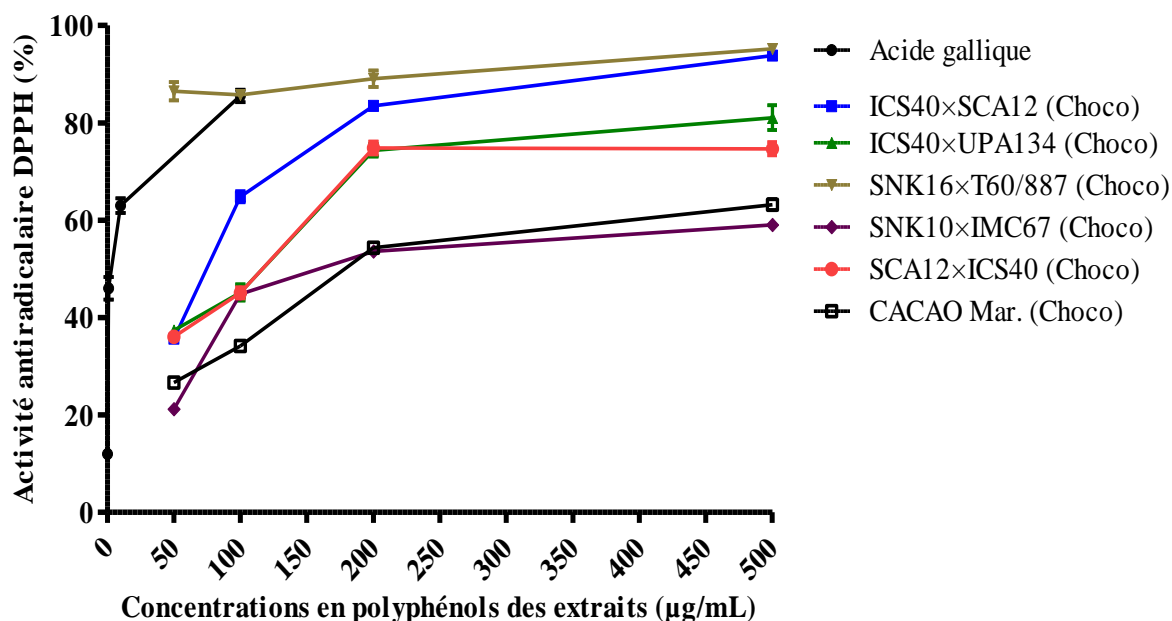
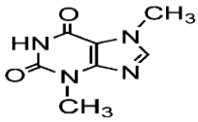
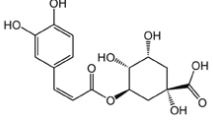
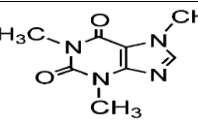
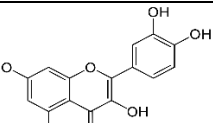
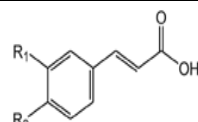
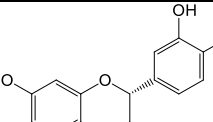
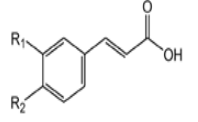
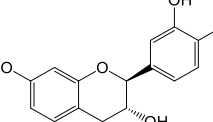


Figure 43: évaluation de l'activité anti-radicalaire des chocolats par le test au DPPH.

III.1.2.1.6 Détermination des monomères de composés bioactifs (polyphénols et méthylxanthines) dans les fèves et chocolats

Afin de mener cette détermination avec précision, certains composés fréquemment retrouvés dans le cacao et le chocolat ont été utilisés comme standards (Tableau X). Le balayage de 150 à 600 nm des extraits bruts de polyphénols de chaque génotype et son chocolat correspondant, a permis d'obtenir différents pics constitués d'un ou un complexe de composés. L'analyse de chaque chromatogramme permet d'identifier la longueur propre à chaque pic et par conséquent d'avoir une idée sur la classe chimique du composé et aussi sa structure. Le chromatogramme des standards utilisés pour la calibration externe et l'identification des composés a permis une appréciation nette de la molécule (Fig. 44). Les différents chromatogrammes obtenus ont montré des pics présents dans tous les échantillons et certains pics qui ont apparu seulement sur un ou quelques génotypes. Le pic de temps de rétention $T_r=3,43$ est apparu chez l'hybride SNK16×T60/887 (Fig. 45). Le même pic apparaît chez l'hybride SNK10×IMC67. Ce pic serait donc spécifique aux hybrides de parents femelles SNK. L'hybride ICS40×SCA12 a présenté deux pics seulement entre 0,2-1 minute ce qui l'a discriminé des autres qui ont présenté trois pics. De plus, l'hybride SCA12×ICS40 a présenté quatre pics dans le même intervalle de temps (Fig. 45).

Tableau X: standards de méthylxanthines et (poly)phénols utilisées pour identification et quantification en UPLC-DAD-ESI(+)-MS

Molécule (s)	TR	λ_m	Molécule (s)	TR	λ_m
 Théobromine	0,9	274	 Acide chlorogénique	6,5	222
 Caféine	2,3	274	 Quercétine (R=OH)	3,6	202 à 391
 Acide caféïque (R1=R2=OH)	3	218, 238, 311 et 323	 (+)-épicatéchine	2,8	278
 Acide férulique (R1=OCH3, R2=OH)	5,9-6	222	 (+)-catéchine	0,3	274

λ_m : Unité de la longueur d'onde

TR : Temps Rétention

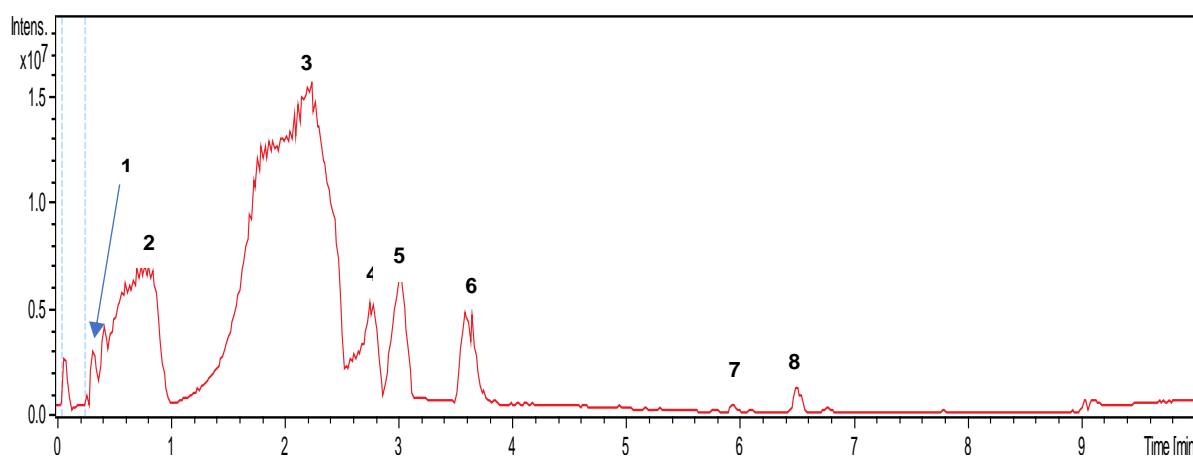


Figure 44: chromatogramme des standards : 1-catéchine ; 2-théobromine ; 3-caféine ; 4-épicatéchine ; 5-acide caféïque ; 6-quercétine ; 7-acide férulique ; 8-acide chlorogénique

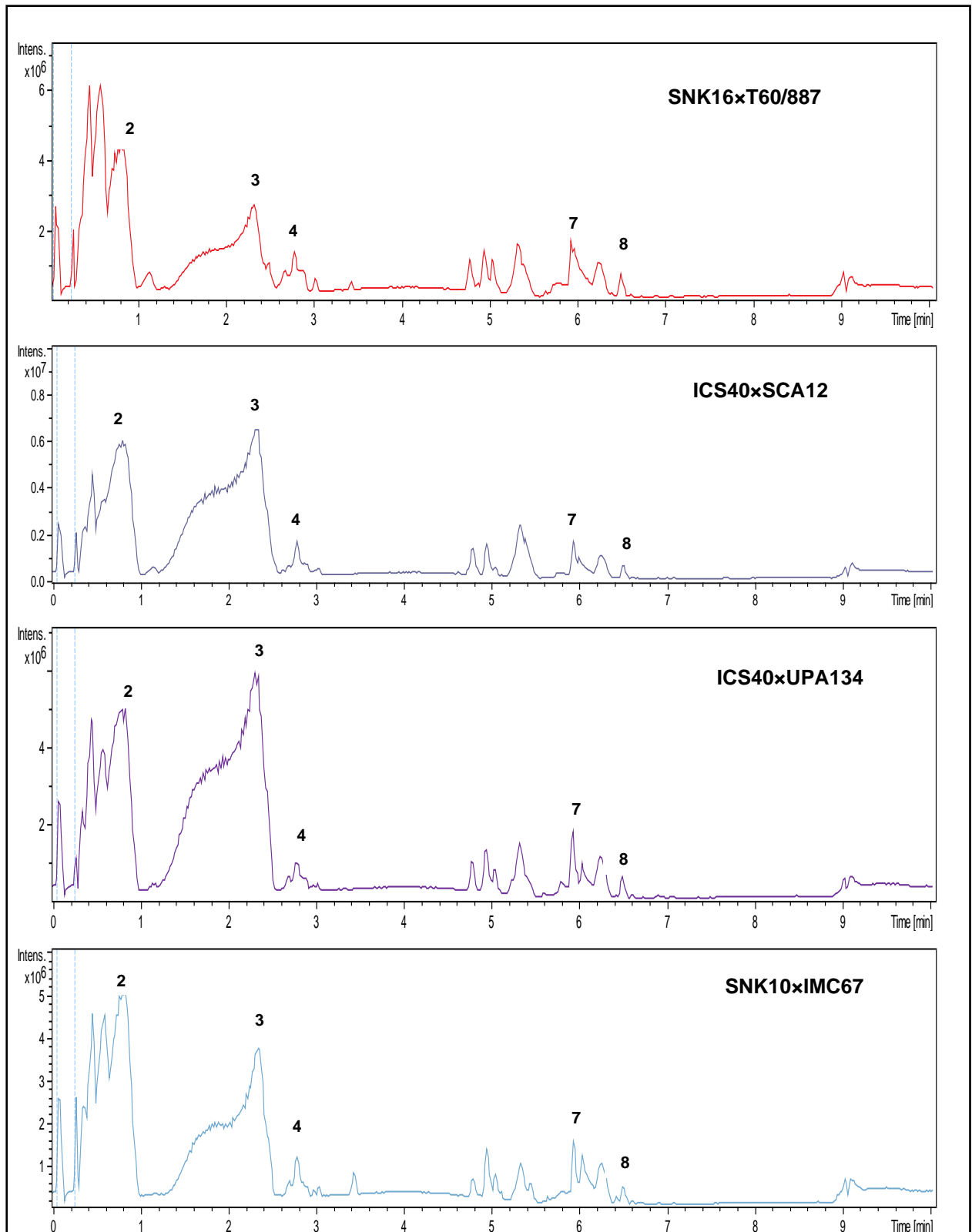


Figure 45: chromatogrammes des échantillons de fèves chez les *Trinitario*×*Forastero* (2-théobromine ; 3-caféine ; 4-épicatéchine ; 7-acide férulique ; 8-acide chlorogénique)

Les différences en termes d'agencement des pics et de leur intensité (Fig. 46, 47 et 48) ont été bien perceptibles entre fonction des génotypes. Il a été remarquablement observable la diminution des pics du cacao au chocolat. Certains pics sont devenus non perceptibles dans certains chocolats.

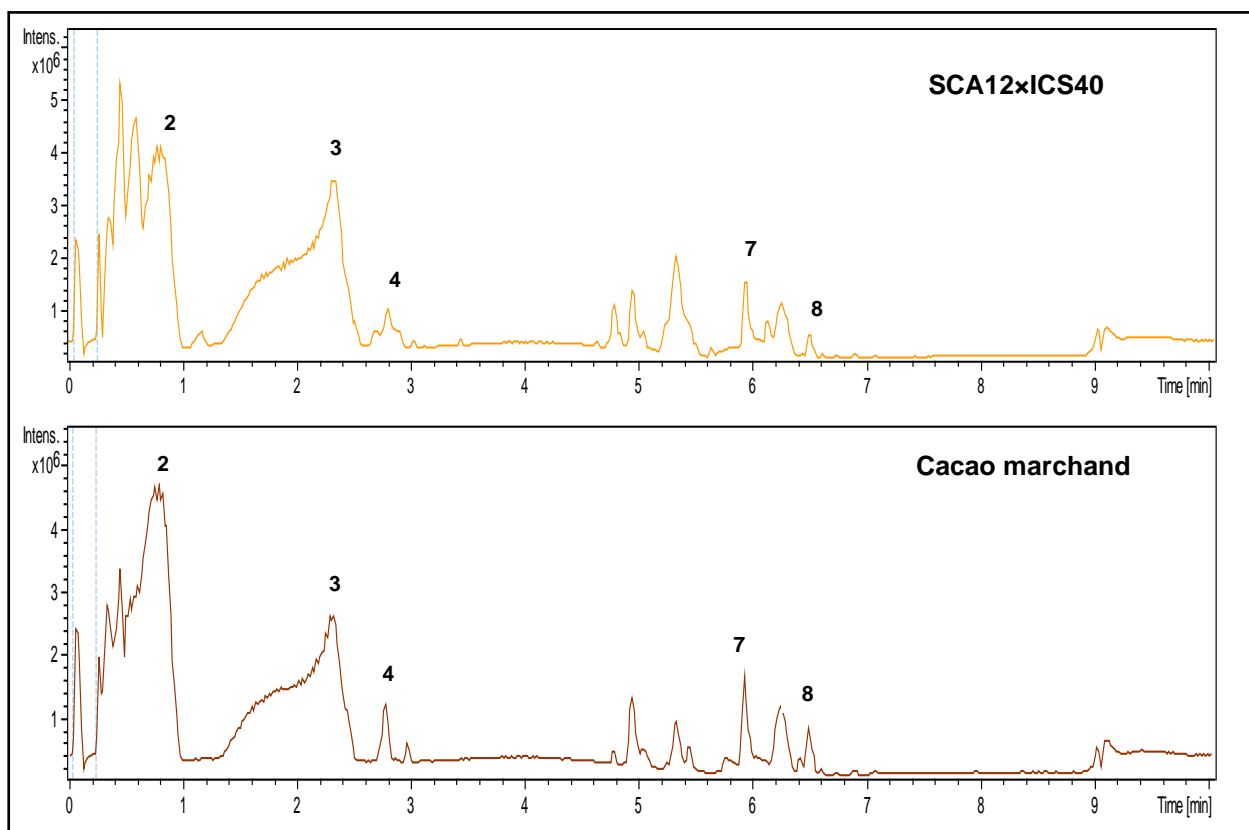


Figure 46: chromatogrammes des échantillons de fèves l'hybride SCA12xICS40 et du cacao marchand (2-théobromine ; 3-caféine ; 4-épicatéchine ; 7-acide férulique ; 8-acide chlorogénique)

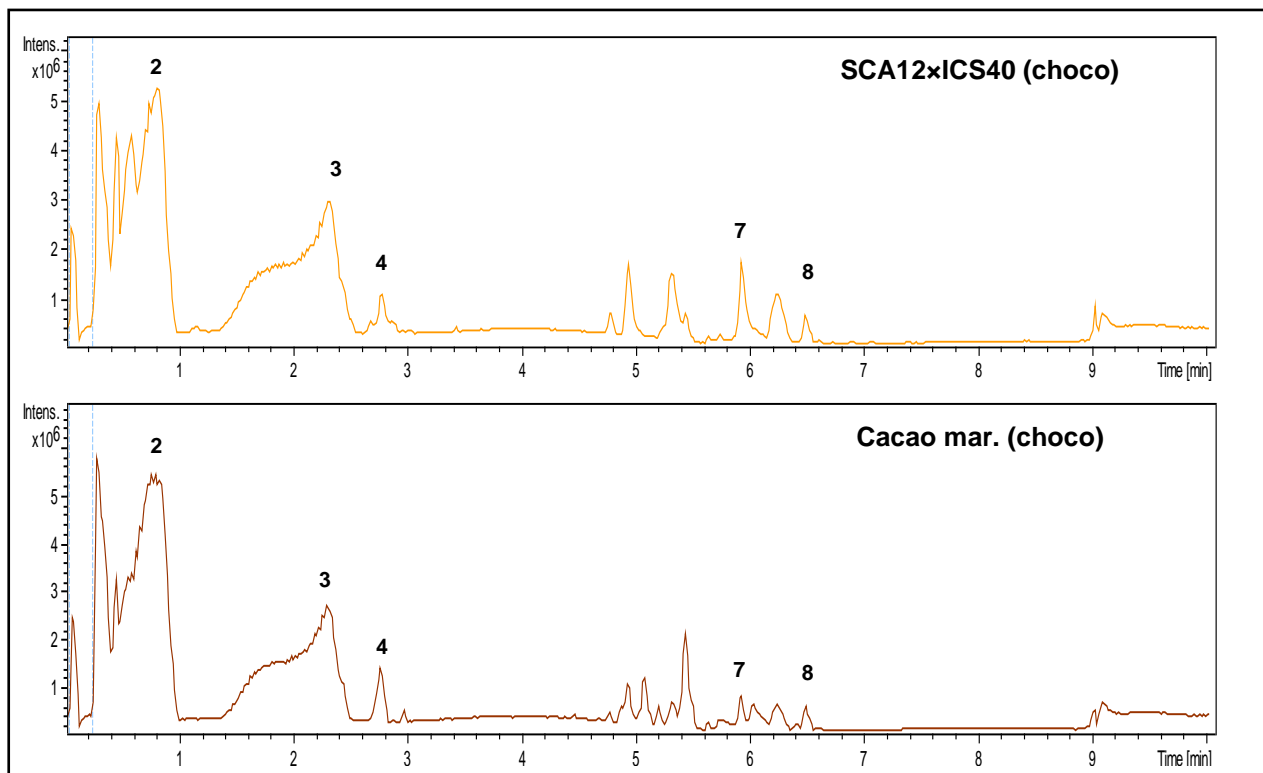


Figure 47: chromatogrammes des échantillons de fèves et chocolats issus de l'hybride SCA12xICS40 et du cacao marchand (2-théobromine ; 3-caféine ; 4-épicatéchine ; 7-acide férulique ; 8-acide chlorogénique)

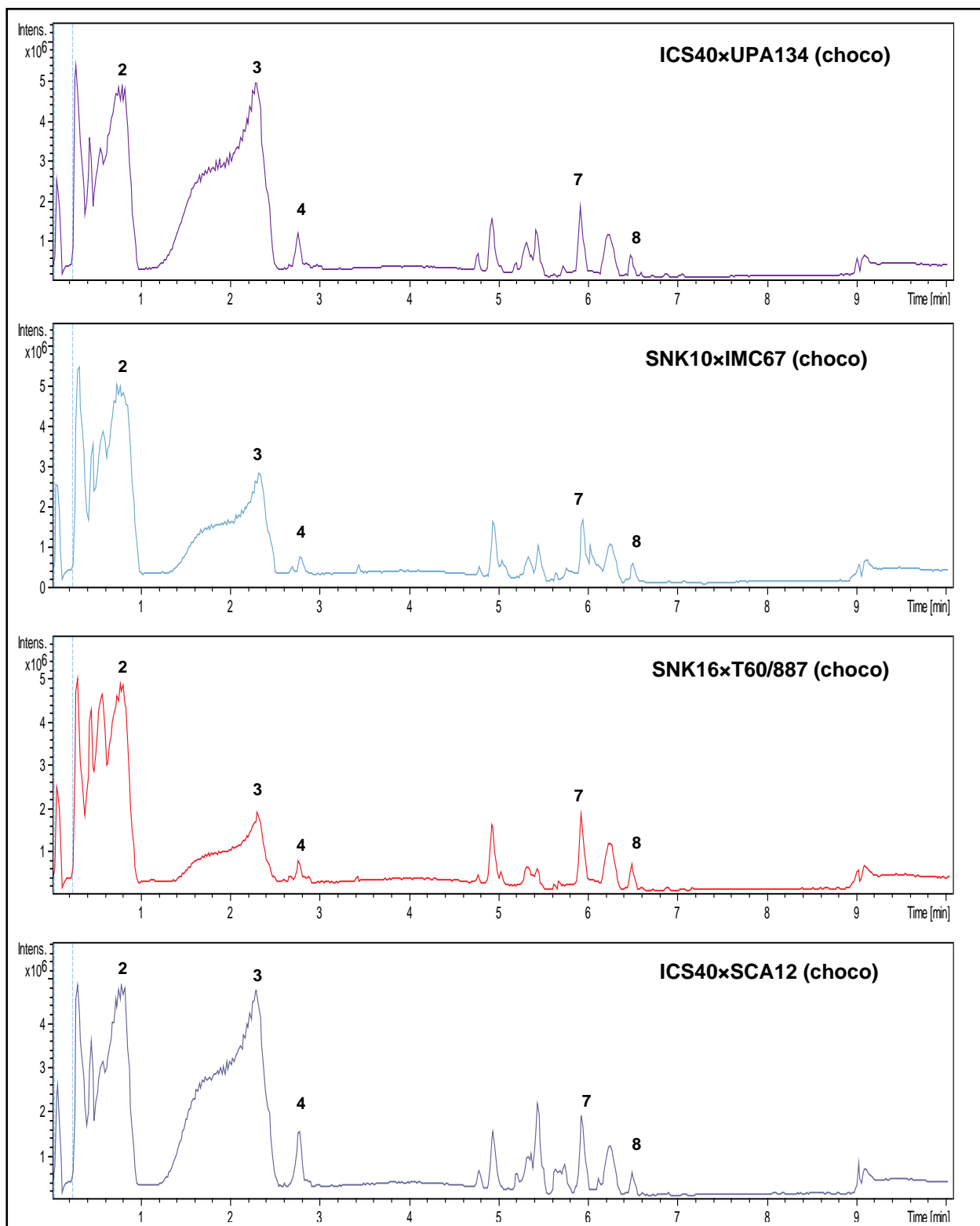


Figure 48: chromatogrammes des échantillons de chocolats chez les *Trinitario*×*Forastero* (2-théobromine ; 3-caféine ; 4-épicatéchine ; 7-acide férulique ; 8-acide chlorogénique)

III.1.2.1.7 Identification des monomères de (poly)phénols et de méthylxanthines par les spectres UV et spectres de masse (MS) par échantillon de fèves et de chocolat

Chaque composé obtenu a été présenté par son spectre ultra-violet (UV) et la caractérisation de son spectre de masse (MS) à haute résolution (HRESIMS) joint par un temps de navigation lumineuse (TOF), ce qui a permis de définir avec précision le composé chimique à 4 chiffres décimaux. Les figures 49, 50, 51 et 52 illustrent les spectres UV et MS de quelques polyphénols identifiés. Des différences au niveau de l'intensité de l'absorption UV ont été facilement décelables entre les génotypes. De même les intensités de représentativité en MS ont existé entre les hybrides. Ces pourcentages ont permis de prédire les variations de concentration qui existeraient entre les mêmes composés chez différents génotypes. Par exemple, l'intensité d'absorption à 278 nm de l'épicatéchine a été estimée à 280 mAU chez l'hybride SNK16×T60/887 tandis que cette même intensité a avoisiné les 400 mAU chez le génotype SNK10×IMC67 (Fig. 49).

La caractérisation des composés a été faite par comparaison de leur longueur d'onde, du temps de rétention et surtout du spectre de masse de la molécule en utilisation une source d'ionisation en mode positif à haute résolution (+HRESIMS) avec les composés standards. Les fragments de chaque molécule ont formé des adduits avec les ions Na^+ , K^+ et H^+ . Ainsi, théobromine et caféine (méthylxanthines) ont absorbé à la même longueur d'onde (274 nm) mais ont apparu à deux temps de rétention différents. La théobromine a apparu à 0,8 min et la caféine à 2,3 min. En fragmentation en spectrométrie de masse (MS), les adduits $[\text{M}+\text{H}]^+ = 181,0998$, $[2\text{M}+\text{Na}]^+ = 383,1518$ et $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 203,0832$ ont confirmé la présence de la théobromine (Fig. 50). Quant à la présence de la caféine, l'adduit $[\text{M}+\text{H}]^+ = 195,1109$ a permis de la décrire. Il convient de noter que, qu'il s'agisse de la caféine ou théobromine, le fragment commun visible en spectres a été le 107,0665 (Fig. 50 et 52). Les adduits $[\text{M}+\text{H}]^+ = 291,1133$, $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 213,1036$ et $[\text{M}+\text{K}]^+ = 329,1207$ ont confirmé la présence de l'épicatéchine à 2,8 min et à 278 nm (Fig. 50). Les fragments $[\text{M}+\text{H}]^+ = 195,1110$ et $[2\text{M}+\text{Na}]^+ = 413,3090$ à une longueur d'onde de 222 nm et temps de rétention 5,9 min ont permis de confirmer la présence de l'acide férulique dans les extraits phénoliques de chaque échantillon (Fig. 51).

D'autres polyphénols ont été identifiés dans les extraits. Certains de ces génotypes étaient présents chez tous les échantillons et d'autres non. L'adduit $[\text{M}+\text{H}]^+ = 867,4730$ et les fragments $m/z=289,1176$, $m/z=445,23$ et $m/z=577,1748$ ont permis de confirmer la présence d'une forme isomérique de la procyanidine C sortie à 3,4 min et à 278 nm. Ces fragments ont apparu chez les hybrides SNK seulement. De même, l'adduit $[\text{M}+\text{H}]^+ = 301,1684$ et $[\text{M}+\text{K}]^+ = 339,7399$ ainsi que les fragments $m/z=425,2492$ et $480,3446$ ont été spécifiques à l'acide salicylique-3-O-glucoside/galactoside et ses dérivés obtenus uniquement chez le cacao marchand/chocolat à 5 (5,1) min et à 218 nm (Fig.53).

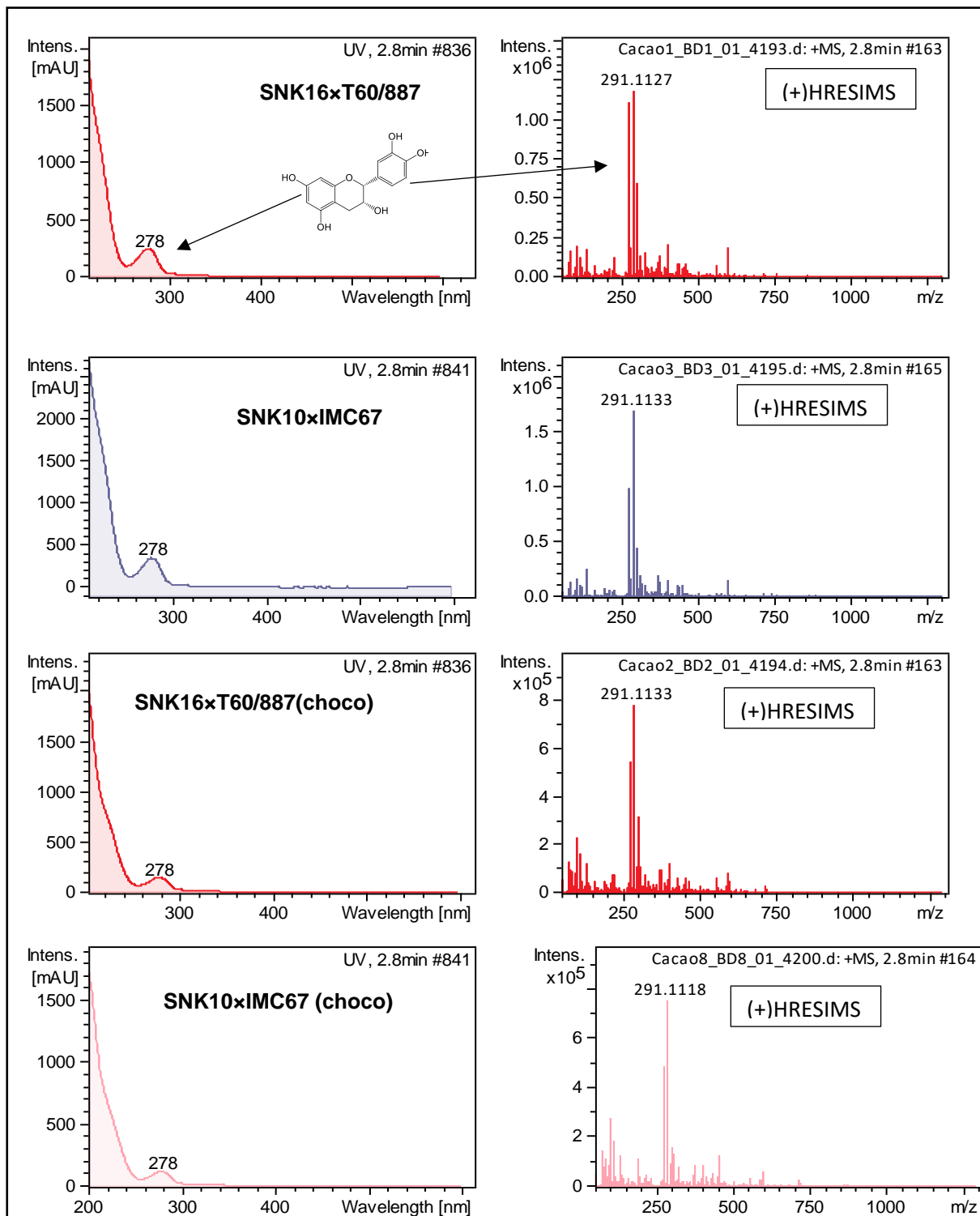


Figure 49: identification de l'épicatéchine chez les hybrides SNK16xT60/887 et SNK10xIMC67

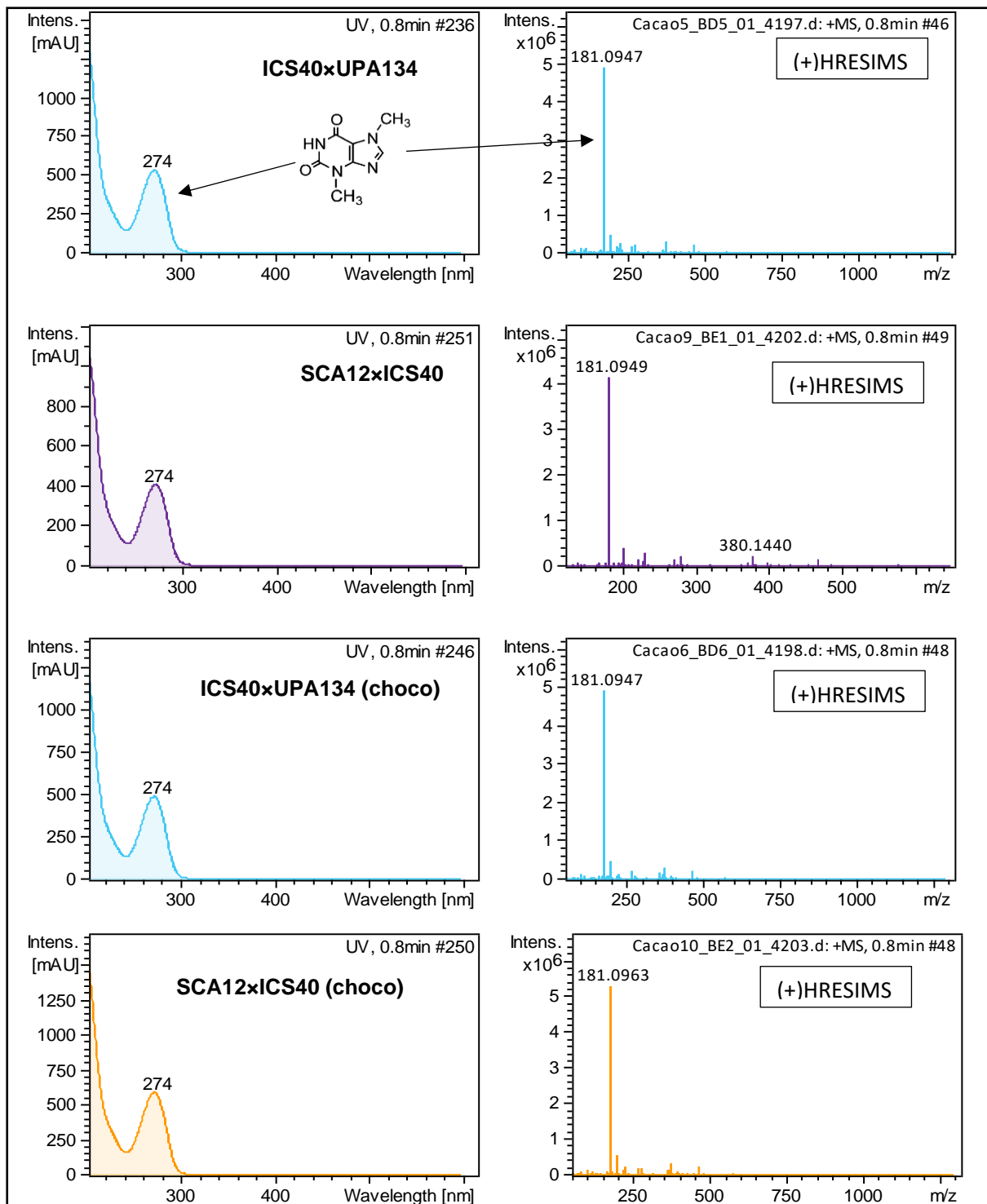


Figure 50: identification de la théobromine chez les hybrides ICS40xUPA134 et SCA12xICS40

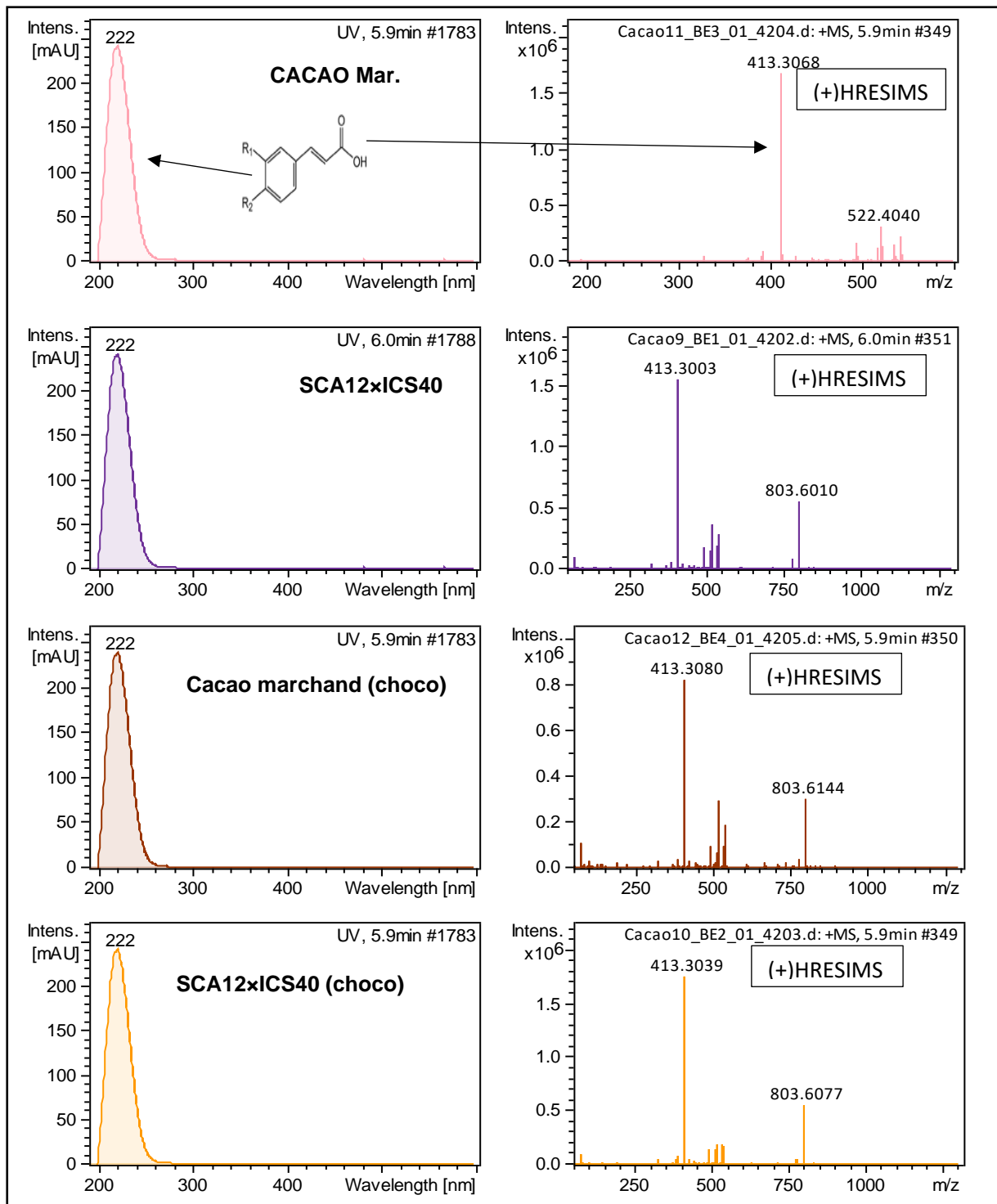


Figure 51: identification de l'acide férulique chez le cacao marchand et l'hybride SCA12×ICS40

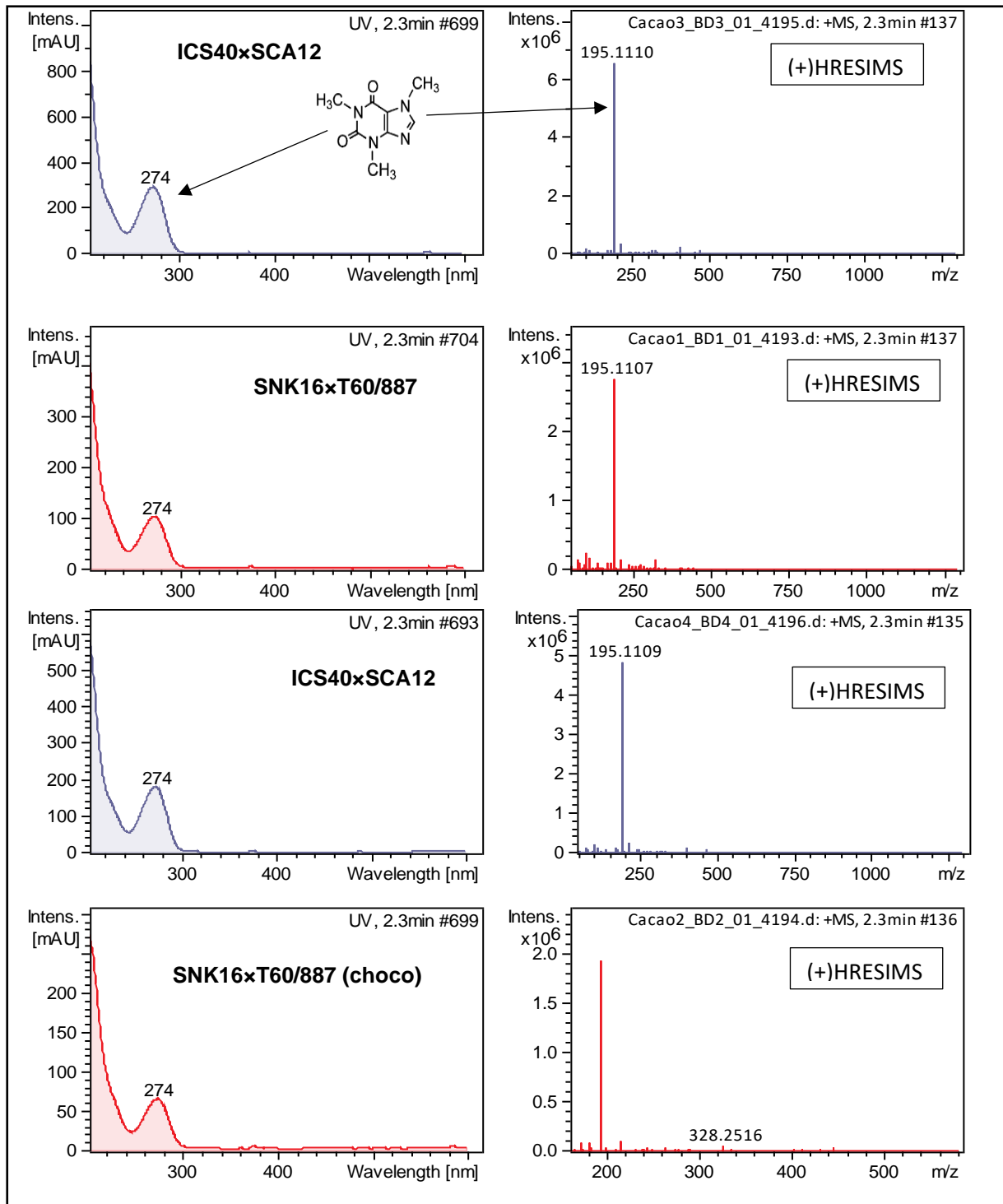


Figure 52: identification de la caféine dans l'extrait des hybride ICS40xSCA12 et SNK16xT60/887

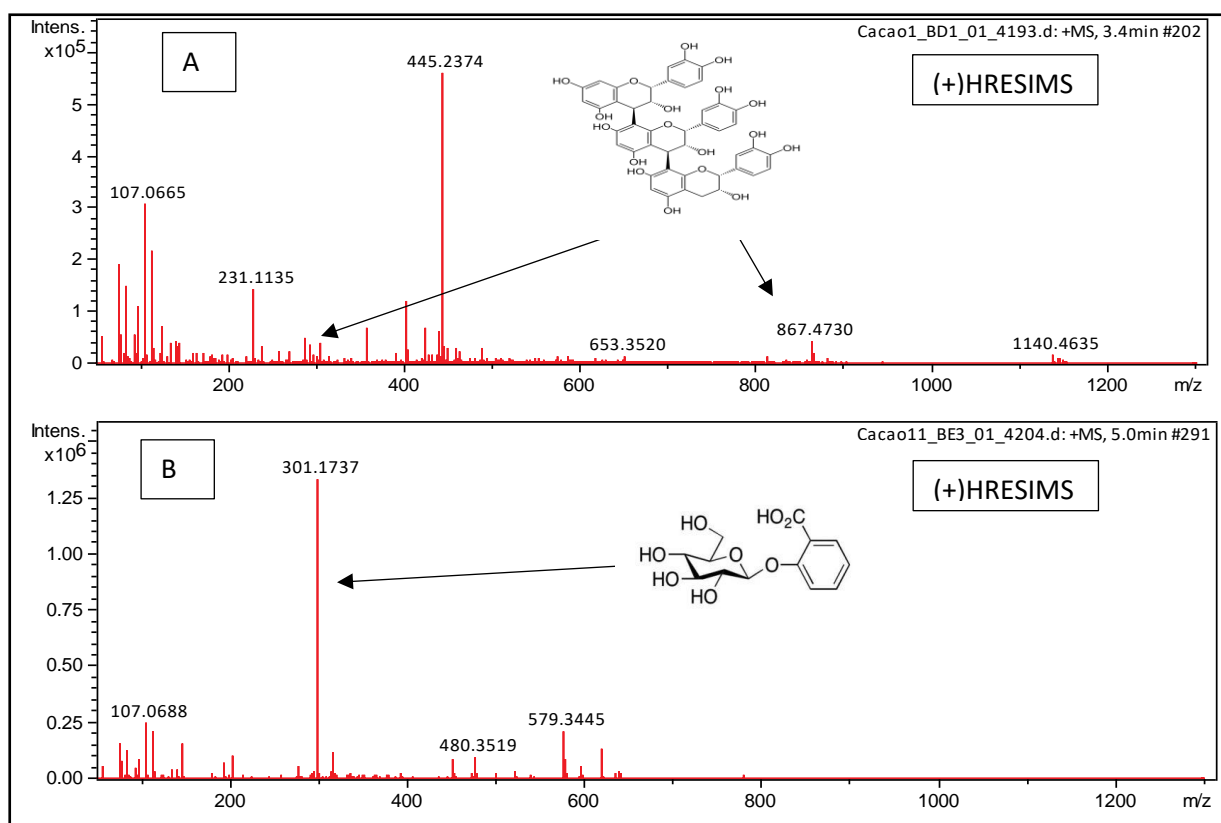


Figure 53: autres composés identifiés et spécifiques à certains cacaos. A (procyanidine C1) et B (acide salicylique-3-O-glucoside/galactoside)

Une quantification de composés a été faite en utilisant une courbe d'étalonnage obtenue à partir des standards et les résultats ci-dessous ont été obtenus. Les résultats ont montré que les concentrations varient en fonction des composés et des génotypes. Le génotype ICS40×SCA12 qui a présenté la plus forte intensité d'absorption à 278 nm a présenté la plus forte concentration en épicatechine. L'épicatechine est restée le monomère phénolique le plus représenté chez tous les génotypes et elle a été suivie de l'acide férulique. Exprimées en mg par équivalent g de catéchine, les teneurs en épicatechine ont varié de 4,46 à 9,81 mg/g (Tableaux XI et XIII). On a observé que les acides sont légèrement moins concentrés chez les hybrides ICS40 pourtant ils sont fortement représentés chez le cacao marchand. L'hybride SCA12×ICS40 qui est resté très peu concentré en épicatechine, a montré la plus forte concentration en acide chlorogénique parmi tous les échantillons. Tous les génotypes ont présenté des concentrations fortes en théobromine. Un individualisme direct a été observé en ce qui concerne les concentrations des deux alcaloïdes. Les teneurs (mg/g) en théobromine ont varié de 12,55 chez l'hybride SNK16×T60/887 à 18,67 chez le cacao marchand. Les hybrides du parent ICS40 ont montré les plus fortes teneurs en caféine (Tableau XII). De plus, le rapport théobromine/caféine a été faible comparé aux autres génotypes. Un rapport théobromine/caféine a montré une valeur supérieure à 9 chez l'hybride SNK10×IMC67, *Trinitario* de

clone femelle (Tableau XII). Dans le même ordre d'idée, le même rapport a donné un ratio de plus de 14 chez le cacao marchand.

Tableau XI: teneurs moyennes de quelques molécules de polyphénols identifiées (mg/g)

Génotypes	épicatéchine	acide férulique	acide chlorogénique
SNK16×T60/887	7,12±0,01 ^e	2,24±0,03 ^c	1,42±0,03 ^{ab}
ICS40×SCA12	9,81±0,01 ^f	1,67±0,01 ^b	1,70±0,03 ^b
ICS40×UPA134	6,87±0,10 ^d	1,07±0,02 ^a	1,34±0,00 ^a
SNK10×IMC67	5,87±0,02 ^c	2,18±0,02 ^c	1,19±0,02 ^a
SCA12×ICS40	4,46±0,02 ^a	2,24±0,01 ^c	2,89±0,00 ^c
Cacao marchand	4,92±0,02 ^b	2,65±0,03 ^d	2,75±0,01 ^c

Les valeurs suivies de la même lettre au sein d'une même colonne ne sont pas significativement différentes au seuil P<0,05 (Test de Tukey).

Tableau XII: teneurs moyennes (mg/g) en théobromine, caféine et rapport théobromine/caféine (fèves)

Génotypes	théobromine	caféine	théo/caf
SNK16×T60/887	12,55±0,07 ^a	1,46±0,02 ^b	8,54±0,22 ^c
ICS40×SCA12	15,55±0,04 ^c	3,42±0,01 ^f	4,53±0,00 ^b
ICS40×UPA134	14,07±0,04 ^b	3,31±0,05 ^e	4,23±0,06 ^a
SNK10×IMC67	18,05±0,03 ^e	1,84±0,00 ^c	9,77±0,04 ^e
SCA12×ICS40	17,48±0,02 ^d	1,96±0,02 ^d	8,29±0,12 ^d
Cacao marchand	18,67±0,04 ^e	1,32±0,01 ^a	14,14±0,16 ^f

Les valeurs suivies de la même lettre au sein d'une même colonne ne sont pas significativement différentes au seuil P<0,05 (Test de Tukey).

Tableau XIII: teneurs moyennes en alcaloïdes, flavan-3-ols et acides phénoliques (chocolats)

Chocolats	théobromine	caféine	épicatéchine	a. féru- lique	a. chlorogé- nique
SNK16×T60/887 (choco)	10,08±0,11 ^a	0,96±0,04 ^a	4,44±0,05 ^a	2,63±0,02 ^f	1,51±0,02 ^c
ICS40×UPA134 (choco)	15,41±0,26 ^e	2,13±0,04 ^d	4,84±0,04 ^b	1,73±0,03 ^c	1,69±0,01 ^d
ICS40×SCA12 (choco)	13,72±0,34 ^c	2,38±0,05 ^e	4,96±0,04 ^b	1,28±0,02 ^a	1,39±0,03 ^b
SNK10×IMC67 (choco)	14,01±0,22 ^{cd}	1,20±0,02 ^b	6,68±0,03 ^c	2,06±0,03 ^d	1,03±0,02 ^a
SCA12×ICS40 (choco)	13,06±0,23 ^b	1,32±0,09 ^b	5,39±0,02 ^d	2,32±0,02 ^e	2,95±0,02 ^f
Cacao marchand (choco)	14,72±0,29 ^d	1,8±0,03 ^c	7,57±0,03 ^e	1,54±0,01 ^b	2,65±0,06 ^e

Les valeurs suivies de la même lettre au sein d'une même colonne ne sont pas significativement différentes au seuil P<0,05 (Test de Tukey).

III.1.2.2 Diversité des précurseurs d'arômes

III.1.2.2.1 Analyse des acides aminés libres des fèves

Les acides aminés (AA) libres obtenus ont été présentés par groupe (AA hydrophobes, AA acides, AA basiques et autres). Au vu des résultats, les acides aminés hydrophobes ont été majoritaires comparés aux autres groupes (Tableau XIV). Toutefois, le cacao marchand a

montré les plus fortes teneurs en acides aminés acides comparé à nos hybrides. Les résultats ont montré que le glutamate est l'acide aminé protéinogène le plus abondant dans la fève de cacao après traitement post-récolte suivi de la leucine et de valine. Nos échantillons ont également présenté des teneurs élevées en acide gamma aminobutyrique (GABA) qui est un acide aminé non protéinogène (Tableau XIV). L'hybride ICS40×SCA12 de parent femelle *Trinitario* et sa réciproque SCA12×ICS40 ont montré les plus fortes teneurs en GABA.

Tableau XIV: teneur moyenne des acides aminés libres dans les différents génotypes (mg/g)

	SNK16×T60/811	ICS40×UPA134	ICS40×SCA12	SNK10×IMC67	SCA12 x ICS40	Cacao Mar
Leu	1,10±0,05 ^b	1,17±0,00 ^b	0,99±0,09 ^{ab}	1,21±0,03 ^b	0,96±0,19 ^{ab}	0,51±0,00 ^a
Val	0,85±0,07 ^c	0,86±0,01 ^c	0,83±0,03 ^{bc}	0,72±0,07 ^b	0,70±0,14 ^b	0,37±0,01 ^a
Ala	0,72±0,09 ^{ab}	1,02±0,00 ^b	0,74±0,06 ^{ab}	1,01±0,09 ^b	0,76±0,11 ^{ab}	0,59±0,03 ^a
Phe	0,85±0,05 ^b	0,86±0,07 ^b	0,84±0,01 ^b	0,94±0,02 ^c	0,68±0,06 ^{ab}	0,45±0,07 ^a
Ile	0,58±0,03 ^b	0,57±0,00 ^b	0,53±0,06 ^b	0,57±0,02 ^b	0,50±0,06 ^b	0,32±0,01 ^a
Tyr	0,54±0,01 ^b	0,53±0,01 ^b	0,54±0,00 ^b	0,44±0,01 ^b	0,51±0,06 ^b	0,23±0,03 ^a
Total AA hydrophobes	4,64±0,11^b	5,01±0,17^b	4,47±0,19^{ab}	4,79±0,18^b	4,11±0,18^{ab}	2,47±0,13^a
Asp	0,08±0,01 ^{ab}	0,14±0,05 ^b	0,14±0,00 ^b	0,10±0,03 ^{ab}	0,13±0,03 ^b	0,17±0,00 ^a
Gln	0,33±0,02 ^a	0,57±0,11 ^b	0,37±0,01 ^a	0,42±0,00 ^a	0,58±0,92 ^b	0,51±0,01 ^a
Asn	0,32±0,03 ^b	0,33±0,04 ^b	0,37±0,01 ^b	0,28±0,00 ^a	0,32±0,06 ^b	0,37±0,02 ^b
Glu	2,10±0,11 ^b	1,62±0,38 ^a	2,14±0,89 ^b	2,08±0,15 ^b	1,88±0,64 ^a	1,84±0,09 ^a
Total AA acides	2,83±0,93^{ab}	2,66±0,66^a	3,02±0,92^b	2,88±0,91^{ab}	2,91±0,79^{ab}	2,89±0,75^{ab}
Arg	0,12±0,01 ^b	0,17±0,02 ^b	0,13±0,04 ^b	0,14±0,01 ^b	0,15±0,01 ^b	0,09±0,00 ^a
His	0,06±0,01 ^{ab}	0,05±0,00 ^a	0,10±0,00 ^b	0,04±0,00 ^a	0,09±0,06 ^b	0,03±0,02 ^a
Lys	0,14±0,02 ^a	0,14±0,00 ^a	0,13±0,02 ^a	0,15±0,04 ^a	0,12±0,03 ^a	0,11±0,00 ^a
Total AA basiques	0,32±0,04^b	0,36±0,06^b	0,36±0,01^b	0,33±0,06^b	0,36±0,03^b	0,23±0,04^a
Thr	0,22±0,03 ^b	0,27±0,02 ^b	0,24±0,01 ^b	0,27±0,06 ^b	0,29±0,04 ^b	0,18±0,03 ^a
Pro	0,80±0,04 ^b	0,63±0,03 ^b	0,67±0,07 ^b	0,58±0,06 ^b	0,58±0,10 ^b	0,29±0,01 ^a
Trp	0,05±0,01 ^b	0,05±0,00 ^b	0,05±0,01 ^b	0,06±0,00 ^b	0,06±0,01 ^b	0,02±0,00 ^a
Ser	0,28±0,02 ^b	0,32±0,04 ^b	0,29±0,01 ^b	0,26±0,00 ^b	0,27±0,06 ^b	0,17±0,02 ^a
Gly	0,09±0,00 ^a	0,12±0,01 ^a	0,15±0,04 ^b	0,10±0,00 ^a	0,15±0,02 ^b	0,08±0,00 ^a
GABA	1,04±0,04 ^a	0,93±0,11 ^a	1,51±0,11 ^b	0,87±0,02 ^a	1,53±0,07 ^b	0,97±0,02 ^a
Total AA autres	2,62±0,38^b	2,66±0,31^a	3,04±0,51^c	2,29±0,29^{ab}	3,01±0,51^c	1,92±0,33^a
Total AA	10,41±0,16^b	10,69±0,24^b	10,89±0,13^c	10,31±0,19^b	10,38±0,07^b	7,51±0,22^a

Les valeurs suivies de la même lettre au sein d'une même ligne ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey).

Les pourcentages d'acides aminés pris par groupe ont montré une très faible variation intra-groupe mais des variations importantes inter-groupes. Le cacao marchand sort du lot car les pourcentages sont bien différents des génotypes obtenus par pollinisation manuelle (Tableau XV).

Tableau XV: pourcentage de chaque groupe d'acides aminés/échantillon.

	SNK16×T60/877	ICS40×UPA134	ICS40 x SCA12	SNK10×IMC67	SCA12 x ICS40	Cacao Marchand
Acides aminés acides	27,18	24,88	27,73	27,93	28,03	38,48
Acides aminés hydrophobes	44,57	46,86	41,04	46,45	39,59	32,88
Acides aminés basiques	3,07	3,36	3,30	3,28	3,46	3,06
Acides aminés autres	25,16	24,88	27,91	22,21	28,99	25,56

III.1.2.2.2 Analyse des sucres réducteurs et autres

Les teneurs en sucres réducteurs et non réducteurs sont importantes chez tous les génotypes considérés y compris le cacao marchand. Le sucre avec la plus grande teneur a été le fructose indépendamment des génotypes. Le glucose a été le deuxième sucre (réducteur) le plus abondant après le fructose et dont les teneurs ont été moins importantes que celles du fructose. Les plus faibles teneurs ont été obtenues par le galactose indépendamment des échantillons. Le verbascose quant à lui, a montré les plus fortes teneurs de sucres non réducteurs dans tous les échantillons mis à part le sucre dont l'invertase génère le fructose et le glucose. Les fèves fermentées/séchées de l'hybride SCA12×ICS40 ont présenté les plus fortes teneurs en sucres réducteurs (fructose et glucose) et aussi les sucres non réducteurs (raffinose et sucrose). Cependant, les plus faibles valeurs de fructose ont été obtenus chez l'hybride SNK10×IMC67 (Tableau XVI). La teneur en glucose est plus faible et presque similaire chez les deux génotypes ICS40.

Tableau XVI : variations de la teneur en sucres réducteurs et autres (g/100g) dans les fèves fermentées/séchées par hybride.

	SNK16×T60/877	Cacao mar	SNK10×IMC67	SCA12×ICS40	ICS40×SCA12	ICS40×UPA134
Glucose	0,34±0,00	0,35±0,00	0,33±0,00	0,37±0,02	0,26±0,04	0,28±0,01
Fructose	3,23±0,29	3,42±0,02	3,01±0,12	3,96±0,21	3,26±0,60	3,71±0,16
Sucrose	0,49±0,02	0,69±0,01	0,68±0,01	0,73±0,06	0,69±0,09	0,62±0,06
Galactose	0,07±0,00	0,05±0,00	0,06±0,00	0,07±0,00	0,06±0,00	0,06±0,01
Raffinose	0,11±0,01	0,28±0,01	0,58±0,01	0,61±0,01	0,49±0,11	0,24±0,00
Stachyose	0,39±0,05	0,35±0,02	0,33±0,00	0,27±0,03	0,23±0,08	0,20±0,00
Verbascose	0,63±0,21	0,52±0,02	0,11±0,00	0,39±0,00	0,31±0,02	0,38±0,01
Maltose	0,09±0,00	0,09±0,00	0,11±0,00	0,16±0,03	0,11±0,02	0,09±0,00

L'analyse en composante principale sur les fèves fermentées et séchées de différents hybrides a montré une dépendance de plus de 73 % entre les individus en fonction des molécules (métabolites) simples étudiées (PC1 = 57,83 et PC2= 15,26). La composante 1 (CP1) est

influencée par la valine, l'alanine, la tyrosine, l'isoleucine et l'épicatéchine. La CP1 caractérise positivement et moyennement les hybrides ICS et négativement et fortement le cacao marchand et l'hybride SCA12×ICS40. La CP2 est influencée par le sucrose, le fructose et la caféine. Cette CP2 caractérise SNK16×T60/887 et SNK10×IMC67 (Fig. 54).

Une classification hiérarchique à 5% d'hétérogénéité des monomères des métabolites jusqu'ici inventoriés, a ressorti 4 sous-groupes. Le sous-groupe 1 comprenant les deux hybrides ICS40, est caractérisé par de fortes teneurs en acides aminés hydrophobes, et en caféine. Le sous-groupe 4 constitué des deux SNK, se distingue par la teneur en fructose. Les sous-groupes 3 et 4 ont été formés individuellement par le cacao marchand et l'hybride SCA12×ICS40 respectivement (Fig. 55). Le premier se distingue par sa forte teneur en acide chlorogénique et en théobromine tandis que le second n'est spécifié par aucun métabolite.

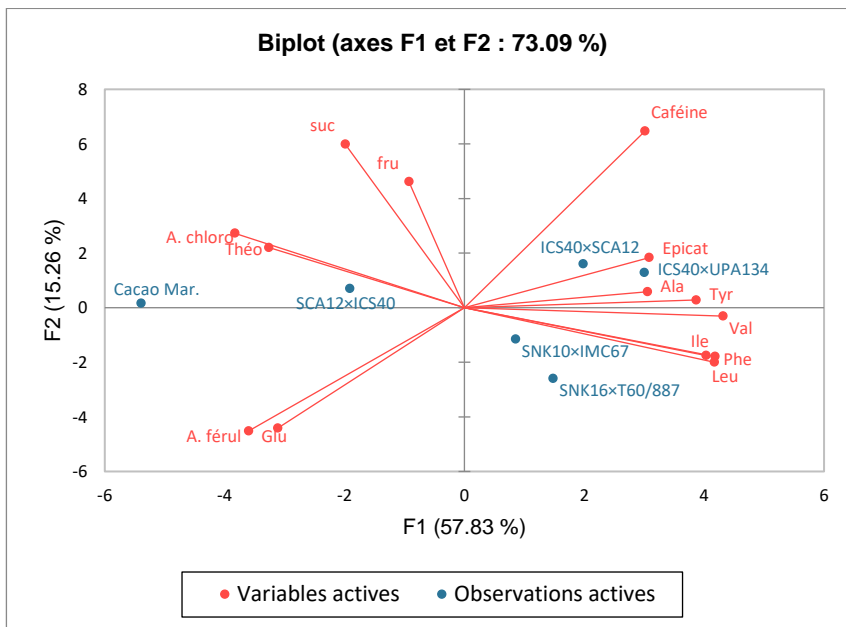


Figure 54 : analyse en composantes principales des métabolites d'intérêt des fèves fermentées/séchées des six échantillons de cacao.

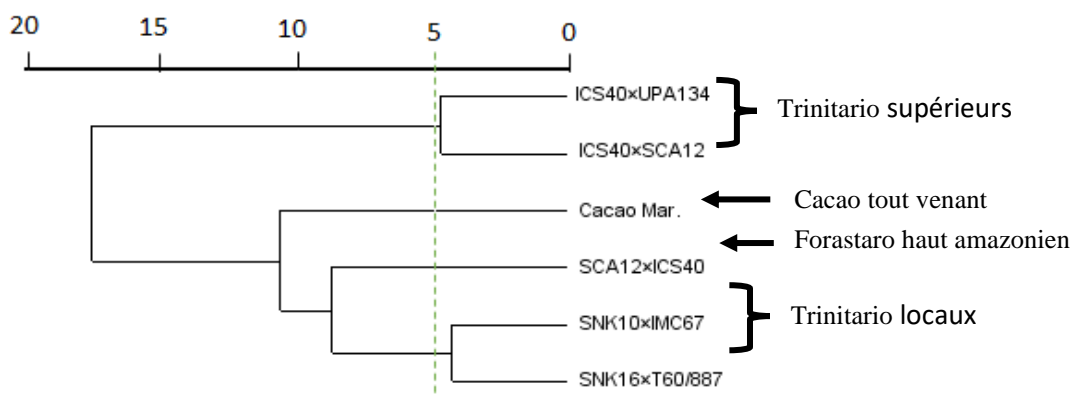


Figure 55: classification hiérarchique ascendante des hybrides basée sur les teneurs de métabolites.

III.1.3 Analyse des arômes et quantification des composés aromatiques volatils

III.1.3.1 Analyse sensorielle des chocolats noirs dérivant de chaque hybride

L'analyse sensorielle des arômes a présenté quelques spécificités de certains chocolats en ce qui concerne les 13 descripteurs retenus. L'hybride ICS40×UPA134 a montré un arôme fort épicé parmi les six chocolats considérés. Le chocolat fait dans les mêmes conditions que les autres, serait plus prisé pour les consommateurs qui recherchent cette note subtile. De même le chocolat de l'hybride SNK16×T60/887 a présenté un arôme fort fruité, miel et sec parmi les six échantillons. Ce chocolat est aussi moyennement épicé et cacaoté. Le cacao marchand, le seul cacao aux génotypes et traitements post-récoltes non connus du lot, a présenté un arôme torréfié très prononcé en cacao (Fig. 56). Quant à SCA12×ICS40, le seul chocolat avec un hybride *Forastero* de parent femelle, il a donné un arôme floral et sucré. De manière générale, on a observé selon les données de cette analyse sensorielle, que nos échantillons de chocolats ont des différences suffisamment importantes concernant les différents arômes qu'ils peuvent dégager pour stimuler les voies retro-nasales.

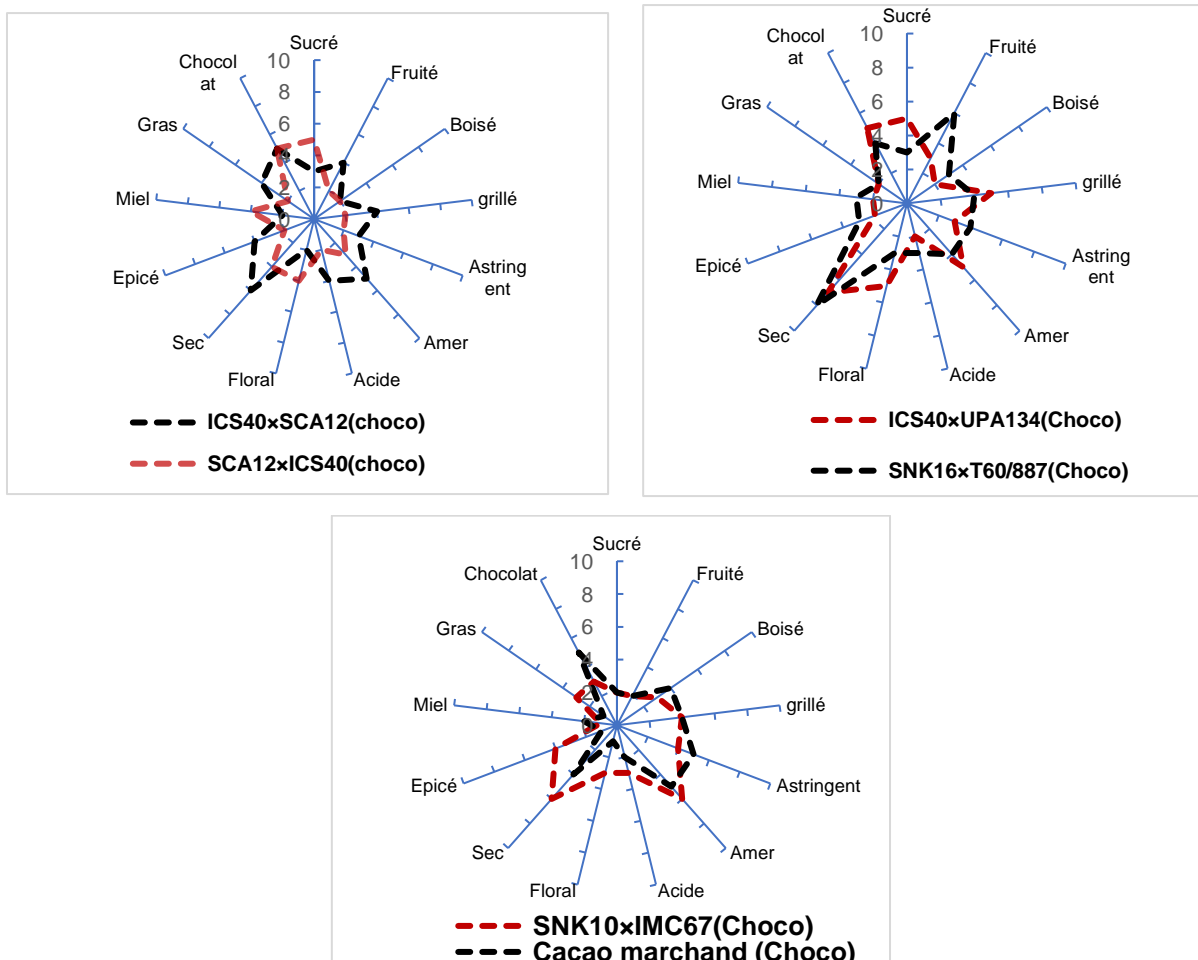


Figure 56 : profils sensoriels (arômes) obtenus après dégustation du chocolat par le panel d'experts.

III.1.3.2 Identification des composés volatils des cacaos et chocolats

Les données de l'analyse par HS-SPME-GC-MS ont été présentées par type d'arôme à l'intérieur duquel la description olfactive de chaque composé a été faite. Les chromatogrammes des composés volatils des trois matrices (fèves fermentées/séchées, fèves torréfiées et chocolats) sont présentés dans les figures 57, 58 et 59. Ces trois matrices montrent relativement les mêmes composés mais l'intensité des pics respectifs varie. Par la suite, ces composés volatils ont été identifiés dans les mêmes matrices et groupés par note d'arôme. Les résultats ont montré des teneurs différentes en fonction du type (ou note) d'arôme au niveau des fèves fermentées/séchées (Tableau XVII). De même, les fortes valeurs de l'écart type du total de chaque note d'arôme montrent des variations importantes sur la teneur de chaque composé au sein d'un génotype donné. La détermination de chaque composé volatil a été faite en fonction de son temps de rétention, de son spectre de masse (MS) et/ou son indice de rétention Kovats (KI). Au sein de chaque type d'arôme, on a retrouvé des composés appartenant à plusieurs classes chimiques. Cependant, les résultats ont montré que chaque type d'arôme est dominé par une ou deux classes chimiques (au maximum) spécifiques. Ainsi, le type "fruité" a été dominé par la classe des alcools et des esters. Le type "floral" a été majoritairement dominé par la classe des terpènes et des esters. Quant au type "arôme chocolat / noisette", il a montré une forte participation des pyrazines. Le type "crème/beurre" a été plutôt le répertoire des cétones. Aussi, la classe des esters représente 47% du groupe des arômes non décrits tandis que la note indésirable est dominée par la classe des alcools et des acides organiques.

Dans chaque note d'arôme, juste quelques composés (maximum quatre) distincts sont majoritairement représentés. Ces composés peuvent donc discriminer les hybrides de cacao.

En effet, la note "fruité" (13 composés) a été majoritairement marquée par l'acétate de 3-méthylbutyle, le pentan-2-ol, le heptan-2-ol et l'éthyle acétate. SCA12×ICS40 a montré la plus forte concentration en éthyl acétate ($48,705 \pm 6,770 \mu\text{g/g}$ soit 39,47 %), qui a été le double de l'heptan-2-ol (19,52 %), le deuxième composé le plus représentatif chez cet hybride. Les deux hybrides ICS40 ont été dominés par l'acétate de 3-méthylbutyle (30,27), l'éthyle acétate (27,49 %) et le pentan-2-ol (22,23 %). Les hybrides SNK ont été distingués par les fortes teneurs en heptan-2-ol soit $51,541 \pm 6,615$ (46,65 %) et $48,798 \pm 3,642 \mu\text{g/g}$ (43,69 %) pour SNK16×T60/887 et SNK10×IMC67 respectivement. L'heptanol acétate, formé entre le heptan-2-ol et l'acide acétique (2-heptanol acétate), a été classé en deuxième position chez les précédents hybrides. Le cacao marchand est resté en-dessous des valeurs fortes obtenues chez les hybrides (Table XVI).

La note "floral" (12 composés) est surtout importante chez l'hybride SCA12×ICS40. En effet, ce génotype a montré des valeurs suffisamment importantes sur certains composés. La teneur en Trans-bêta-ocimène est en moyenne 100 fois plus élevée dans ce génotype que les autres. De même, la concentration en β -Myrcène est au minimum 13 fois plus importante chez cet hybride comparée aux autres. De plus la teneur en linalool chez cet hybride est 7 fois minimum plus importante dans ses fèves marchandes que celles des autres cacaos. Les deux hybrides ICS40 ont montré des fortes concentrations en 2-phényléthanol (54,08 %) tandis que l'acétophénone a marqué les hybrides SNK (68,80 %). Quant au cacao marchand, il a présenté les teneurs importantes en 2-phényléthanol (35,98 %) et en acétophénone respectivement $18,747 \pm 6,217 \mu\text{g/g}$ (35,98 %) et $14,387 \pm 3,638 \mu\text{g/g}$ (27,61 %) de matière sèche (Tableau XVII).

La 2,3,5,6-tétraméthylpyrazine, la 2,3,4-triméthylpyrazine et la benzaldéhyde ont différencié et marqué la note "chocolat / noisette" (12 composés) chez tous les cacaos. La teneur en ces composés est moins importante chez les hybrides SNK que les autres cacaos. La 2,3,5,6-tétraméthylpyrazine est plus concentrée chez l'hybride SCA12×ICS40 ($207,699 \pm 9,534 \mu\text{g/g}$ soit 70,91 %) soit 5 et 7 fois la teneur du même composé chez les hybrides SNK10×IMC67 (48,11 %) et SNK16×T60/887 (43,87 %) respectivement. Quant au cacao marchand, il est différent des autres par les plus fortes teneurs en 2,3,5-triméthylpyrazine et benzaldéhyde soit $32,777 \pm 7,161$ et $66,776 \pm 16,362 \mu\text{g/g}$ respectivement.

La note "crème/beurre" (3 composés) est fortement marquée par deux cétones en C4 à savoir 2,3-butanedione et la 3-hydroxybutan-2-one (ou acétoïne) présentes dans ce groupe. La plus forte valeur en 2,3-butanedione a été obtenue chez l'hybride SNK16×T60/887 ($20,921 \pm 0,013 \mu\text{g/g}$ soit 75,57 %), ce qui permet de le discriminer de SNK10×IMC67 ($14,378 \pm 0,824 \mu\text{g/g}$ soit 75,39 %). Quant à l'acétoïne, elle permet de séparer les deux hybrides ICS40 ; l'hybride ICS40×SCA12 présentant la plus forte concentration parmi les échantillons soit $15,905 \pm 1,108 \mu\text{g/g}$ (Tableau XVI).

Le type "arôme indésirable" est marqué par la forte présence de l'acide acétique. Ce composé est beaucoup plus présent chez le cacao marchand avec une valeur de $596,056 \pm 80,419 \mu\text{g/g}$ de matière sèche (Tableau XVII).

La somme des composés décrits dans une note d'arôme donné est un important facteur discriminant les génotypes et par là décrivant la spécificité de ladite note. Ainsi, la note "fruité" est majoritairement portée par les hybrides SCA12×ICS40 ($123,41 \pm 14,00 \mu\text{g/g}$) et SNK16×T60/887 ($117,96 \pm 14,351 \mu\text{g/g}$) au détriment du cacao marchand ($61,976 \pm 4,82 \mu\text{g/g}$). La note "floral" caractérise fortement l'hybride SCA12×ICS40 avec un total de $67,20 \pm 5,84$

$\mu\text{g/g}$. En ce qui concerne la note "chocolat / noisette", elle est fortement portée par l'hybride SCA12×ICS40 et le cacao marchand avec respectivement $292,87\pm 93,48$ et $265,66\pm 79,57$ $\mu\text{g/g}$ de matière sèche. Enfin, la note "crème/beurre" est dominante chez les deux hybrides ICS40 avec plus de 31 $\mu\text{g/g}$ contre l'hybride SNK10×IMC67 et le cacao marchand (Tableau XVII). Il est à noter que les deux hybrides ICS40 ont présenté des notes quasi identiques voire les composés qui les constituent. Mise à part la note "crème/beurre" où leur teneur est plus importante, ces deux hybrides présentent des valeurs intermédiaires dans toutes les autres notes d'arômes décrits (Tableau XVII).

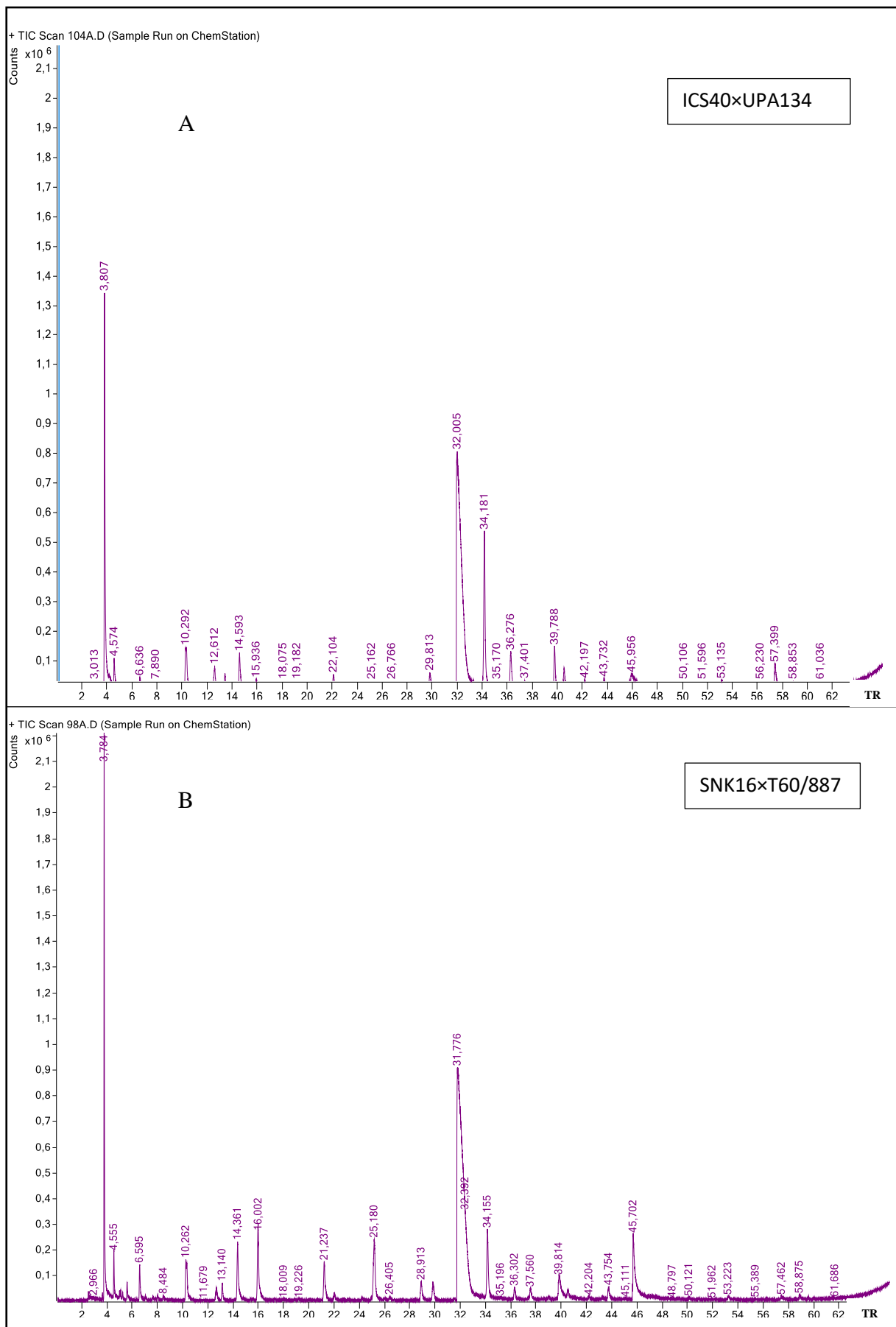


Figure 57: chromatogrammes obtenus par analyse des composés aromatiques volatils des fèves des hybrides ICS40xUPA134 (A) et SNK16xT60/887 (B) par HS-SPME-GC-MS

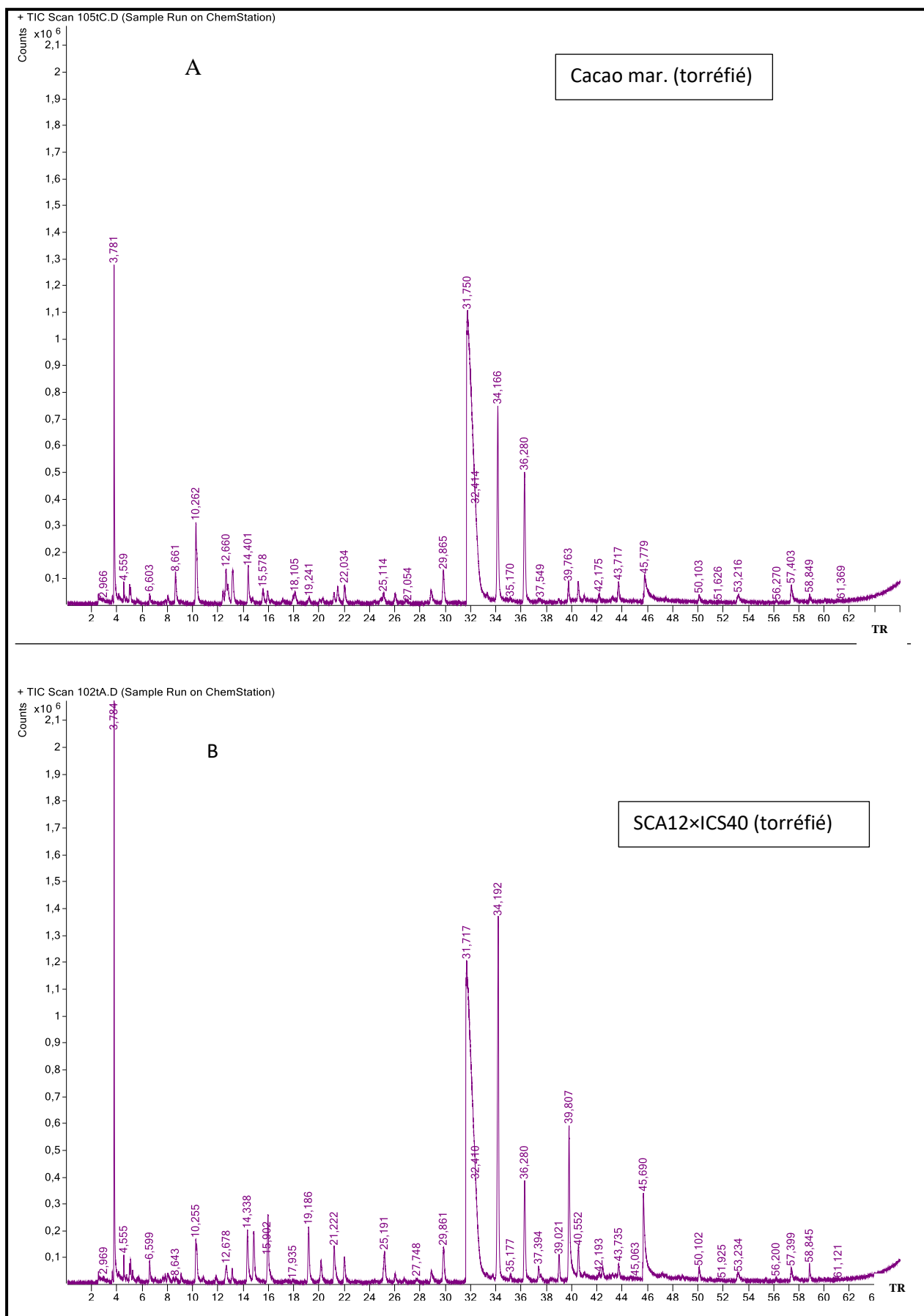


Figure 58 : chromatogrammes obtenus par analyse des composés aromatiques volatils du cacao marchand torréfié (A) et de l'hybride SCA12xICS40 torréfié (B) par HS-SPME-GC-MS

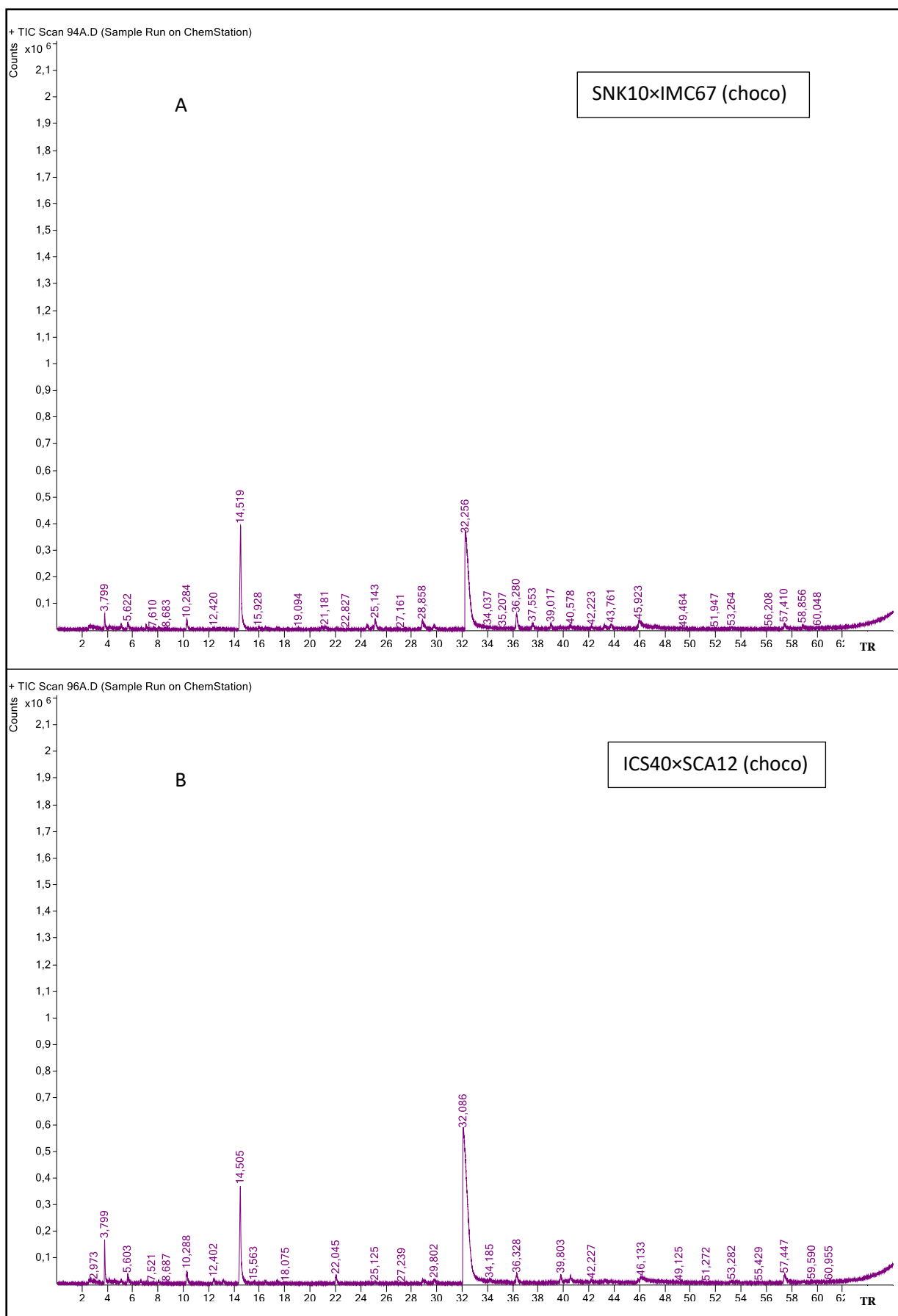


Figure 59 : chromatogrammes obtenus par analyse des composés aromatiques volatils du chocolat des hybrides SNK10×IMC67 (A) et ICS40×SCA12 (B) par HS-SPME-GC-MS

Les spectres de masse des composés discriminants ont été établis (Fig. 60). Ces spectres ont confirmé avec précision chacune de ces molécules au-delà de leur indice de rétention Kovats (KI).

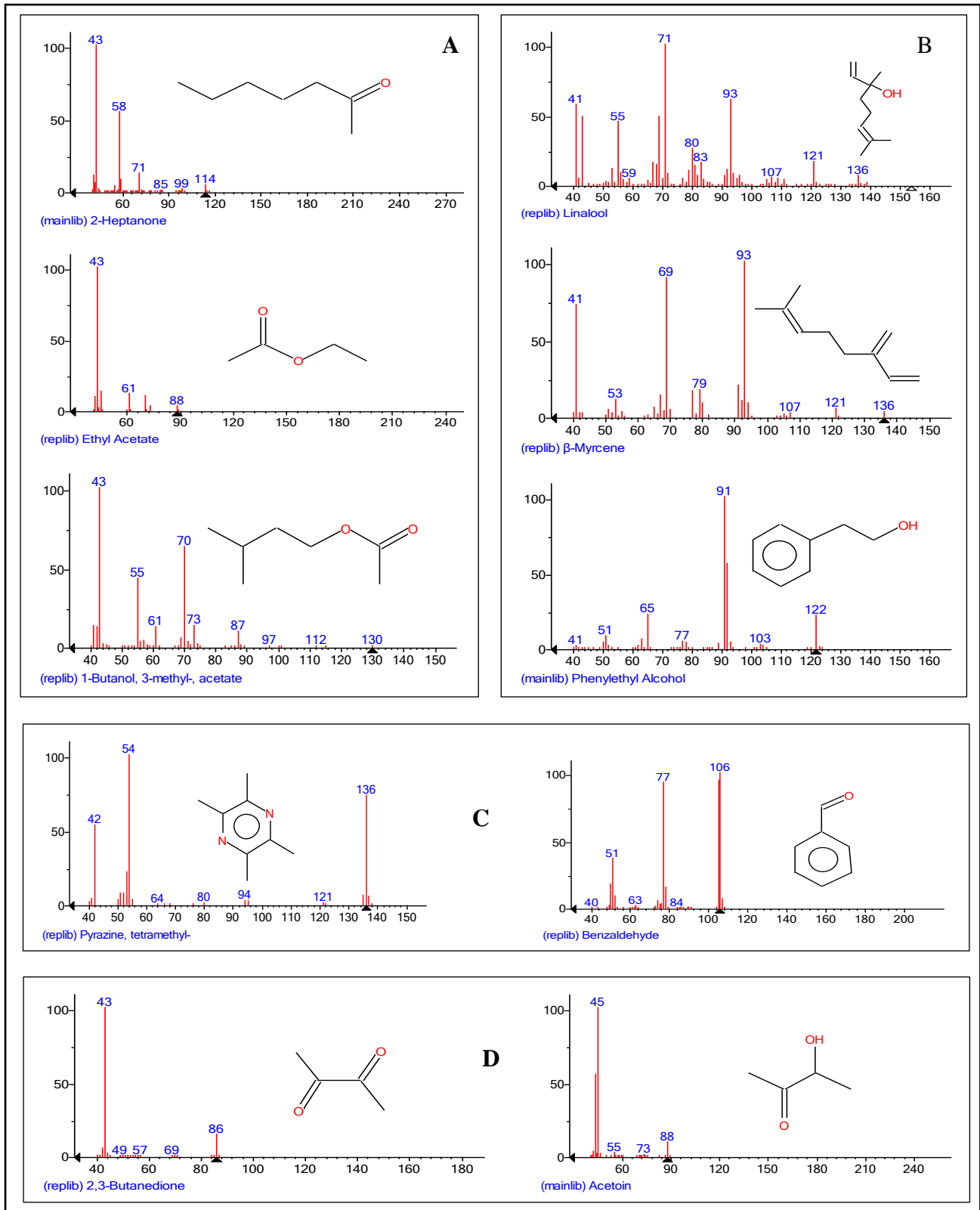


Figure 60: quelques spectres de masse (MS) des composés ayant discriminé les notes de cacao. A (note "fruitée"), B (note "florale"), C (note "chocolat/noisette") et D (note "crème/beurre").

Tableau XVII: composés volatils identifiés dans les fèves fermentées/séchées de cacao groupés par note d'arôme.

N°	Composés	Temps de rétention	SCA12×ICS40	Cacao mar.	ICS40×UPA134	ICS40×SCA12	SNK10×IMC6 7	SNK16×T60/88 7	Mode de détection	Classe chimique	Description olfactive
1	3-méthyl-1-butanol	17,97	0,697±0,017 b	1,610±0,252 a	1,361±0,310 a	1,799±0,087 a	0,724±0,170 b	0,401±0,028 b	MS, KI	Alcool	Fruité, banane, fermenté, cognac
2	Acétate de 3-méthylbutyle	12,67	9,232±0,436 d	14,626±0,489 c	19,456±1,594 b	24,581±0,081a	5,300±0,239 e	5,423±0,476 e	MS, KI	Alcool	Fermenté, banane mure, fuité
3	Pentan-2-ol	13,12	9,787±0,356 c	11,607±1,438 c	20,017±,584 a	15,784±0,216 b	8,343±0,747 c	9,701±0,158 c	MS, KI	Alcool	Citron, fruité, lemon gras
4	Heptan-2-ol	25,16	24,088±1,561 b	7,375±0,782 c	6,408±0,512 c	7,132±0,395 c	48,798±3,642 a	51,541±,615 a	MS, KI	Alcool	Fruité, crème, beurre
5	Heptan-2-one	15,57	0,313±0,043 c	0,893±0,144 a	0,595±0,195 abc	0,707±0,040 ab	0,509±0,133 bc	0,414±0,066 bc	MS, KI	Cétone	Fruité, noisette, floral, fromage
6	Pentanol acétate	10,33	6,221±0,375 b	6,140±0,432 b	10,267±1,087 a	9,673±0,248 a	3,933±0,305 c	5,076±0,224 bc	MS, KI	Ester	Fruité, frais, sucré
7	Isobutyl acétate	8,45	0,143±0,010 a	0,021±0,003 b	0,012±0,002 b	0,050±0,007 b	0,156±0,0263 a	0,159±0,029 a	KI	Ester	Sucré, fruité, éthéré
8	Nonan-2-one	28,90	4,983±0,430 bcd	6,600±1,496 abc	3,061±0,782 cd	2,129±0,178 d	9,975±2,723 a	8,795±1,607 ab	MS, KI	Ester	Fruité, aromatique
9	Ethyl Acétate	4,55	48,705±6,770 a	8,119±2,174 d	24,749±4,149 b	15,061±1,065 cd	9,560±2,243 cd	17,817±0,9484 bc	MS, KI	Ester	Fruité, banane, éthéré
10	2-Heptanol, acétate	21,22	18,027±0,956 a	4,494±0,213 b	2,741±0,311 b	3,724±0,297 b	17,135±1,365 a	18,426±2,188 a	MS, KI	Ester	Fruité
11	2,3-Butanediol	38,26	0,208±0,015 a	0,073±0,020 b	0,000±0,000 c	0,000±0,000 c	0,000±0,000 c	0,000±0,000 c	MS	Ester	Fuité, orange, tropical
12	Éthyl benzoate	51,61	1,014±0,056 ab	0,397±0,125 c	1,355±0,442 a	0,628±0,089 bc	0,267±0,089 c	0,208±0,048 c	MS	Ester	Doux, fruité, médicinal, cerise, raisin
13	Furanéol	60,99	0,000±0,000 c	0,023±0,003 a	0,013±0,003 b	0,000±0,000 c	0,000±0,000 c	0,000±0,000 c	MS, KI	Cétone	Fruité, ananas, raisin, tomate
Total note "fruité"			123,41±14,00 a	61,976±4,82 c	90,03±8,83 b	81,21±7,85 b	104,69±13,34 ab	117,96±14,35 a			
14	Phénéthyl acétate	53,14	3,240±0,357 bc	4,171±1,094 bc	8,482±2,850 a	5,280±1,358 ab	1,025±0,017 c	1,219±0,148 c	MS, KI	Ester	Floral, miel
15	2-phenyl éthanal	43,25	3,477±0,632 ab	5,423±1,719 a	3,042±0,724 b	2,567±0,544 b	1,650±0,317 b	1,778±0,264 b	MS, KI	Aldéhyde	Floral, miel
16	2-phényléthanol	57,39	7,069±1,038 bc	18,747±6,217 ab	25,332±5,757 a	16,147±2,296 ab	5,571±1,794 c	3,828±1,217 c	MS, KI	Alcool	Floral, miel, rose, fruité
17	Acétophénone	43,74	6,943±0,446 b	14,387±3,638 a	5,979±1,930 b	4,957±0,482 b	8,968±2,657 ab	8,552±0,96 b	MS, KI	Cétone	Floral, amande, piquante, douce
18	Cis-Linalool oxide	34,07	1,539±0,083 a	1,072±0,187 b	1,251±0,182 ab	1,328±0,083 ab	0,485±0,071 c	0,546±0,087 c	MS	Terpène	Floral, agrumes, doux, terreux
19	Trans-béta-ocimène	19,20	15,164±0,571 a	0,448±0,131 b	0,131±0,025 b	0,262±0,015 b	0,526±0,069 b	0,248±0,045 b	MS	Terpène	Floral, végétal
20	β-Myrcène	14,86	17,026±0,888 a	1,141±0,199 b	0,496±0,045 b	0,655±0,129 b	1,228±0,399 b	0,408±0,095 b	MS, KI	Terpène	Épicé, moût, balsamique
21	o-Xylène	15,38	0,013±0,001 b	10,017±3,331 a	0,127±0,038 b	0,186±0,029 b	0,149±0,049 b	0,000±0,000 b	MS	Terpène	Floral, sucré
22	Linalool	39,01	3,821±0,109 a	0,506±0,122 b	0,426±0,139 b	0,373±0,020 b	0,619±0,197 b	0,359±0,068 b	MS, KI	Terpène	Floral, rose, sucré, vert, agrumes

23	Octan-1-ol	39,05	0,315±0,013 a	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	MS, KI	Alcool	Épicé, vert, boisé, terreux
24	phénylméthyl acétate	49,47	0,017±0,003 b	0,009±0,002 bc	0,000±0,000 c	0,037±0,011 a	0,007±0,001 bc	0,007±0,001 bc	MS, KI	Ester	Doux, floral, fruité, miel, épicé
25	Méthyl benzen-zacétate	50,12	11,032±0,295 a	7,952±1,908 b	4,725±0,898 cd	6,472±0,951 bc	2,469±0,248 de	1,790±0,507 e	MS	Ester	Floral, doux, miel, jasmin
Total note "floral"			67,20±5,84 a	52,10±5,60 b	46,84±7,21 b	35,44 ± 4,67 bc	15,75±1,56 c	12,43±1,18 c			
26	2-méthyl-butanal	5,00	4,258±0,299 a	3,788±1,108 ab	2,204±0,517 c	3,944±0,151 a	2,370±0,196 bc	1,876±0,083 c	MS, KI	Aldéhyde	Chocolat, malt
27	3-méthyl-butanal	5,10	3,331±0,323 a	2,178±0,566 b	1,389±0,370 bc	2,104±0,126 b	1,272±0,364 bc	1,061±0,078 c	KI	Aldéhyde	Chocolat, malt
28	Benzaldéhyde	36,28	38,516±2,201 b	66,776±16,362 a	19,148±6,166 bcd	32,017±1,389 bc	13,535±4,255 cd	5,411±1,386 d	MS, KI	Aldéhyde	Amande, sucre brûlé
29	2,6-diméthylpyrazine	24,55	0,182±0,010 c	1,496±0,311 a	0,000±0,005 c	0,000±0,000 c	0,125±0,013 c	1,022±0,077 b	MS, KI	Pyrazine	Chocolat, noisette
30	2,3-diméthyl-pyrazine	26,01	5,155±0,398 b	8,543±1,624 a	2,639±0,731 c	1,265±0,123 c	1,306±0,149 c	0,795±0,078 c	MS, KI	Pyrazine	Caramel, cacao
31	2,3-Diméthyl-5-éthylpyrazine	32,37	0,016±0,005 b	0,028±0,008 a	0,013±0,000 b	0,000 ±0,000 c	0,000±0,000 c	0,006±0,000 bc	MS	Pyrazine	Cacao torréfié
32	2,3,5-Triméthyl-6-éthylpyrazine	36,56	1,265±0,047 a	0,727±0,137 b	0,640±0,05 b	0,032±0,004 d	0,156±0,024 cd	0,299±0,037 c	MS, KI	Pyrazine	Chocolat, grillé
33	3,5-Diméthyl-2-éthylpyrazine	32,37	0,016±0,005 a	0,019±0,004 a	0,012±0,000 ab	0,000±0,000 c	0,008±0,001 bc	0,006±0,000 bc	KI	Pyrazine	Torréfié, noisette, café
34	2,3,5,6-Tétraméthylpyrazine	34,19	207,699±9,534 a	146,566±31,813 b	166,927±23,181 b	163,961±0,767 b	29,103±9,009 c	43,877±4,330 c	MS, KI	Pyrazine	Chocolat, cacao, café
35	2,3,5-Triméthylpyrazine	29,82	27,902±1,730 a	32,777±7,161a	16,221± 1,73 b	6,944±0,283 b	10,814±3,107 b	14,374±1,530 b	MS, KI	Pyrazine	Cacao, verdure, noisette grillée, moisi
36	2-acétopyrrole	58,84	4,492±0,379 a	2,615±0,840 b	2,835±0,832 b	2,141±0,045 b	2,028±0,540 b	2,248±0,391 b	MS	Pyrrol	Chocolat, noisette, herbal
37	2-Formylpyrrole	59,92	0,047±0,010 c	0,145±0,035 a	0,119±0,024 ab	0,146±0,033 a	0,043±0,013 c	0,060±0,017 bc	MS	Pyrrol	Café
Total note "chocolat/noisette"			292,87±93,48 a	265,66±79,57 a	222,14±52,06 b	212,55±18,26 b	60,75±17,60 c	71,02±21,73 c			
38	2,3-Butanedione	6,59	17,390±0,664 b	9,153±1,177 d	15,468±0,007 bc	16,525±0,415 bc	14,378±0,824 c	20,921±0,013 a	MS, KI	Cétone	Beurre
39	Butyrolactone	42,18	1,576±0,096 b	3,827±0,742 a	3,916±0,750 a	1,652±0,021 b	1,483±0,382 b	1,293±0,135 b	MS	Lactone	Beurre, crème
40	3-hydroxybutan-2-one	22,01	8,915±0,367 b	7,637±0,938 bc	15,905±1,108 a	12,899±0,227 b	3,201±0,746 d	5,471±1,016 cd	MS, KI	Cétone	Beurre, lait caillé, caramel
Total note "crème/beurre"			27,88±7,91 b	20,61±2,74 c	35,28±6,80 a	31,07±8,25 a	19,06±7,00 c	27,68±1034 b			
41	Acétaldéhyde	2,96	0,551±0,03 a	0,312±0,051 bc	0,446±0,021 ab	0,300±0,097 c	0,106±0,008 d	0,239±0,057 cd	KI	Aldéhyde	Boisé, frais, herbacé
44	2-ethyl-5-méthyl-furan	8,47	0,940±0,050 a	0,027±0,007 d	0,317±0,044 c	0,349±0,036 c	0,705±0,053 b	0,931±0,085 a	MS	Furanne	Brûlé

45	2-ethylhexyl tert-butyl Ether	9,43	0,277±0,049 a	0,222±0,017 ab	0,295±0,019 a	0,222±0,014 ab	0,171±0,028 bc	0,145±0,011 c	MS	Ether	
46	Ethyl 3-méthylbutanoate	10,09	0,230±0,018 ab	0,228±0,034 ab	0,268±0,027 a	0,153±0,024 b	0,217±0,015 ab	0,172±0,047 b	MS, KI	Ester	Fruité, sucré, ananas, piquant (The Good Scents Company)
47	Butyl acétate	10,26	20,327±2,644 ab	24,716±2,181 a	19,486±0,027 ab	23,955±2,988 a	14,535±2,076 bc	9,394±0,458 c	MS, KI	Ester	Fruité (https://www.cdc.gov/niosh/npjg)
48	D-Limonène	15,57	0,000±0,000 c	0,019±0,002 bc	0,013±0,003 bc	0,012±0,003 bc	0,022±0,005 b	0,084±0,015 a	MS, KI	Terpène	Agrumes, menthe
49	Terpinolène	21,88	0,005±0,000 a	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	0,004±0,000 a	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	MS	Terpène	Doux, odeur de pin
50	Méthyl lactate	3,78	0,020±0,004 b	0,000±0,000 c	0,017±2,549 b	0,070±0,009 a	0,000±0,000 c	0,000±0,000 c	MS	Ester	
51	3-Ethoxypropyl acétate	27,52	0,295±0,082 b	0,000±0,000 d	0,421±0,048 a	0,114±0,021 c	0,000±0,000 d	0,000±0,000 d	MS	Ester	
52	Méthyl acétate	3,78	541,660±5,076 b	239,614±3,543 d	366,1583±4,098 c	623,777±6,043 a	185,509±2,453 d	207,514±3,343 d	KI, MS	Ester	
53	2,3-Butanediol, diacétate A	35,16	3,094±0,132 a	1,862±0,375 b	3,184±0,587 a	1,955±0,144 b	0,519±0,020 c	0,803±0,115 c	MS	Ester	Vert, éthéré, fruité, frais Mosciano, Gerard P&F 19, No, 5, 79, (1994)
54	2,3-Butanediol, diacétate B	37,40	7,364±0,248 a	0,716±0,246 d	4,712±0,682 b	1,850±0,129 c	0,786±0,22 d	0,497±0,170 d	MS	Ester	
55	2,3-Butanediol, [R-(R*, R*)]-	37,55	2,690±0,240 b	1,537±0,375 b	1,181±0,139 b	0,829±0,131 b	6,568±1,829 a	6,537±1,113 a	MS	Ester	
56	5-Méthyl furfural	39,08	0,022±0,007 a	0,014±0,003 ab	0,000±0,000 c	0,010±0,002 bc	0,018±0,004 ab	0,000±0,000 c	MS, KI	Furanne	Grillé, brûlé
57	1,2-Propanediol, 1-acétate	39,80	2,419±0,117 a	0,014±0,004 c	0,921±0,216 b	2,129±0,273 a	1,253±0,144 b	2,076±0,410 a	MS	Ester	
58	Bicyclo[3,1,1]heptan-2-one	40,53	6,279±0,742 a	4,128±0,375 b	6,515±0,264 a	3,581±0,029 b	0,656±0,204 c	1,213±0,106 c	MS, KI	Cétone	
Total autres			587,491±34,85 a	274,49±59,70 c	404,47±91,14 b	660,21±155,51 a	211,66±46,11 c	230,32±51,59 c			
59	Acide acétique	31,80	528,707±28,237 ab	596,056±80,419 a	525,345±72,004 ab	498,322±19,998 ab	348,828±51,186 c	417,215±45,146 bc	MS, KI	Acide	Vinaigre, aigre
60	Acide 3-méthylbutanoïque	45,70	42,598±2,491 a	14,366±4,325 d	20,323±4,325 cd	45,387±2,401 a	28,419±7,839 bc	38,591±3,919 ab	MS	Acide	Sueur, rance
61	Éthanol	5,59	14,887±1,194 a	2,902±0,347 c	8,911±0,760 b	3,494±0,103 c	4,526±0,687 c	9,769±0,370 b	MS, KI	Alcool	Alcool
62	2-methoxy-Phenol	55,33	0,560±0,027 a	0,009±0,001 d	0,176±0,032 c	0,262±0,038 bc	0,000±0,000 d	0,284±0,062 b	KI	Alcool	Boisé, phénol, bacon, fumé
63	Alcool benzyle	56,20	0,619±0,047 ab	0,315±0,102 c	0,439±0,066 bc	0,652±0,020 a	0,337±0,098 c	0,096±0,013 d	MS, KI	Alcool	Acide, piquant
Total note "indésirable"			587,37±230,52 a	613,64±264,66 a	555,19±131,75 b	548,11±218,12 b	382,11±152,15 d	465,95±181,82 c			

Les valeurs suivies de la même lettre au sein d'une même ligne ne sont pas significativement différentes au seuil P<0,05 (Test de Tukey).

Description olfactive : Kadow *et al.* (2013) ; Aprotosoiaie *et al.* (2016) ; Tuenter *et al.* (2020) ; Utrilla-Vázquez *et al.* (2020) et thegoodscentscompany.com

L'analyse en composantes principales a montré que certains composés sont fortement corrélés avec certains hybrides. Les axes 1 et 2 décrivent 65,42 % de la variabilité totale (Fig. 61). L'axe 1 est décrit par l'acétaldéhyde, 2-ethylhexyl tert-butyl Ether, le cis-linalol oxide (furanoid), le 2,3-butanediol, diacétate A, le bicyclo [3.1.1] heptan-2-one et le butyl acétate. Cet axe discrimine les hybrides SNK10×IMC67 et SNK16×T60/887. Quant à l'axe 2 qui représente 26,84 % des données enregistrées, il est fortement marqué par l'hybride SCA12×ICS40 et le cacao marchand. Cet axe est fortement marqué par la présence de l'heptan-2-one, du 2-ethyl-5-methyl-furan, de l'octan-1-ol, du trans-bêta-ocimène, de l'éthanol et 2-methoxy-Phenol.

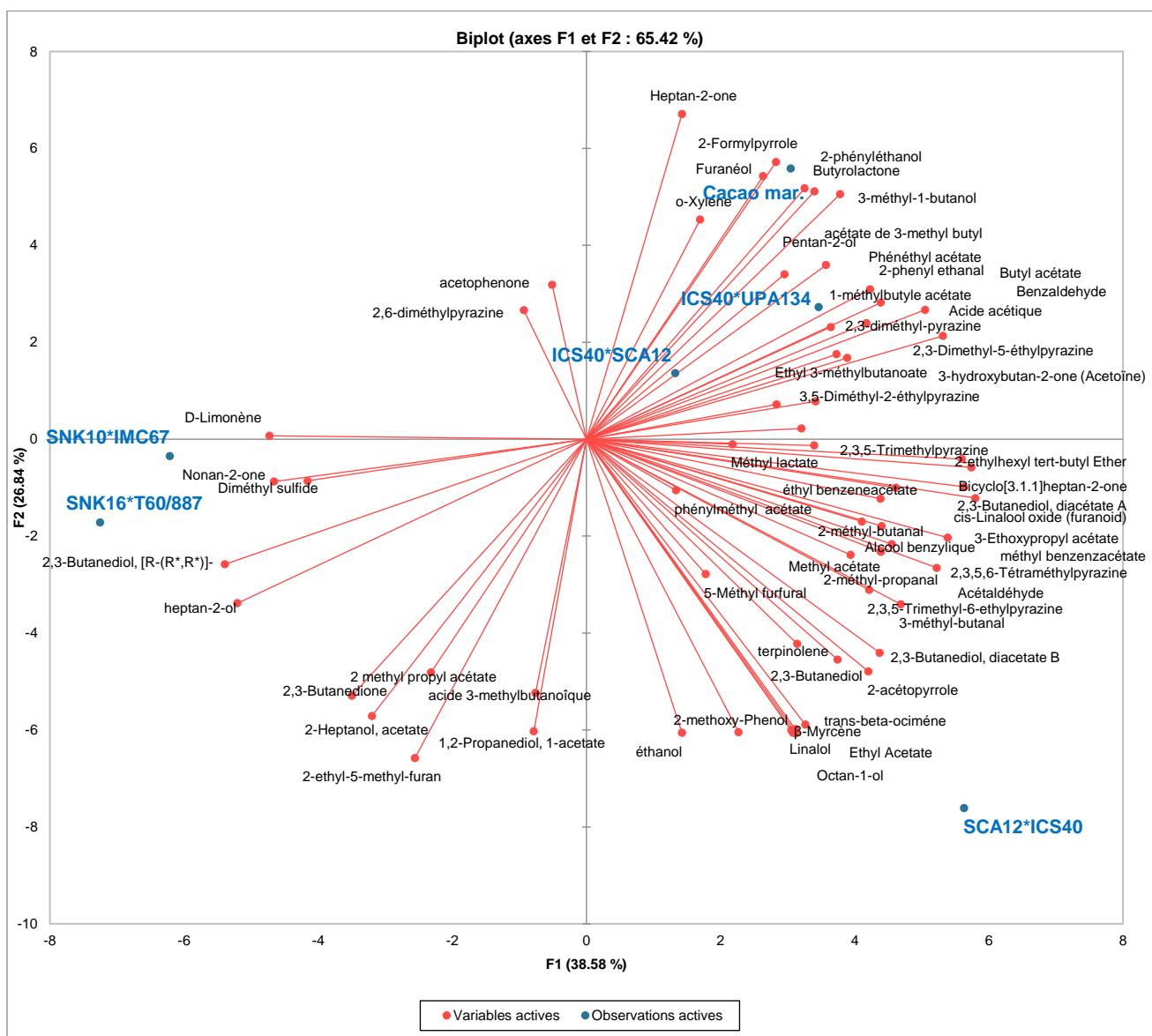


Figure 61: analyse en composantes principales entre les composés volatils obtenus chez les six différents géotypes des fèves fermentées/séchées.

Concernant la matrice fèves torréfiées, la description des composés volatils a permis de ressortir cinq notes également à savoir la note "fruité", la note "floral", la note "chocolat/noisette", la note "crème beurre", et la note "indésirable". Une autre catégorie de composés a été classée comme non décrite (la note "autre").

Pour la note fruité (13 composés volatils), elle a été plus forte chez l'hybride SNK16×T60/887 ($108,38 \pm 15,27 \mu\text{g/g MS}$) à l'opposé de l'hybride ICS40×UPA134 ($68,09 \pm 7,54 \mu\text{g/g MS}$) où elle a été la moins importante. Tout en discriminant les échantillons, le 2-heptanol, l'acétate de 3-méthylbutyle et le 2-heptanol acétate sont les composés majoritaires de cette note (Annexe 7).

La note "floral" a été largement dominée par l'hybride SCA12×ICS40 avec un total moyen de $79,64 \pm 6,86 \mu\text{g/g MS}$ contre $18,34 \pm 2,24 \mu\text{g/g MS}$ chez l'hybride SNK16×T60/887 en bas de l'échelle. De manière individuelle sur les 12 composés volatils de cette note, le 2-phényl éthanol, le β -myrcène, le trans-bêta-ocimène, le phényléthyl acétate, le linalool et Méthyl benzenzacétate ont discriminé les génotypes (Annexe 7).

Concernant la note "chocolat/noisette", elle était très importante chez l'hybride SCA12×ICS40 ($296,76 \pm 58,47 \mu\text{g/g MS}$) et le cacao marchand ($288,32 \pm 46,52 \mu\text{g/g MS}$). Cependant, cette note a été moins importante chez les deux hybrides SNK soit $79,45 \pm 13,26 \mu\text{g/g MS}$ et $62,147 \pm 6,93 \mu\text{g/g MS}$ respectivement les hybrides SNK16×T60/887 et SNK10×IMC67. La 1,2,3,4-tétraméthylpyrazine et la benzaldéhyde sont les deux composés majoritaires ayant discriminé les échantillons de cacao considérés (Annexe 7).

Quant à la dernière note importante à savoir la note "crème/beurre", elle était plus prononcée chez l'hybride ICS40×UPA134 ($50,45 \pm 13,98 \mu\text{g/g MS}$) et plus faible chez l'hybride SNK10×IMC67 ($20,17 \pm 5,33 \mu\text{g/g MS}$). La 3-hydroxybutan-2-one et la 2,3-butanedione ont fortement marqué cette note et discriminé les échantillons (Annexe 7).

En ce qui concerne les composés non décrits et la note indésirable, le méthyl acétate et l'acide acétique de manière spécifique, ont respectivement marqué ces deux sous-sections (Annexe 8).

Le chocolat, comme dernière matrice de nos échantillons, a été aussi décrit par cinq notes avec un groupe de composés non décrits. Les différences au sein des échantillons sont aussi remarquables tant au niveau de la somme des composés qu'à chaque composé volatil individuel (Tableau XVIII).

En ce qui concerne la note fruité, le chocolat issu de l'hybride SNK10×IMC67 a présenté la plus forte teneur ($6,622 \mu\text{g/g}$) avec une forte teneur en heptan-2-ol, nonan-2-one et heptan-2-ol acétate. Le chocolat de l'hybride ICS40×UPA134 présente la deuxième teneur en

note "fruité". Ce chocolat a montré de fortes concentrations en pentan-2-ol, le 2,3-butadiol et surtout l'éthylbenzenacétate. Ce dernier composé lui est d'ailleurs spécifique.

Pour la note "floral", les chocolats obtenus à partir des hybrides ICS40 sont ceux qui la décrivent mieux. Ces chocolats ont particulièrement montré des fortes teneurs en 2-phényl éthanol et 2-phényl acétate (Tableau XVIII).

La note "chocolat/noisette" est majoritaire chez les chocolats des hybrides : ICS40×UPA134, SCA12×ICS40 et SNK16×T60/887. Ces chocolats sont distincts des autres par leurs fortes en 2,3,5,6-tétraméthylpyrazine et en 2,3,5-triméthylpyrazine.

La note "crème/beurre" domine par les chocolats des hybrides ICS40×UPA134 et SCA12×ICS40. En effet, la forte teneur en acétoïne desdits hybrides (14,013 et 14,851 µg/g respectivement) a marqué la différence fondamentale observée dans la description de cette note.

Quant à la note "indésirable", l'acide acétique est le composé ayant discriminé les chocolats. Ce composé est resté fortement présent dans le chocolat de l'hybride ICS40×UPA134 tandis que l'éthanol est dominant chez le cacao marchand (Tableau XVIII).

L'analyse en composantes principales (ACP) obtenue à partir des composés volatils répertoriés dans les six chocolats a montré un pourcentage total de 58,42 % (axes 1 et 2) (Fig. 62). L'axe F1 qui décrit 30, 23 % de la variabilité totale est influencé par l'octan-1-ol, le myrcène et la méthyl benzenacétate, la 2,3-butadione et l'acétoïne. Cet axe est fortement décrit par les chocolats des hybrides SNK10×IMC67 et ICS40×UPA134. Quant à l'axe F2 qui définit 28,19 % des variables, il est dominé par l'acétopyrrole, le 2-phényl éthanal, le butyl acétate, le diméthylsulfite et le 1-méthylbutyl acétate. Cet axe est dominé par les chocolats des hybrides SNK16×T60/887, SCA12×ICS40, ICS40×SCA12 et le cacao marchand (Fig. 62).

Tableau XVIII: composés volatils identifiés dans les différents chocolats noirs

N°	Composés	RT	SCA12×ICS40 (Choco)	Cacao march (Choco)	ICS40×UPA134 (Choco)	ICS40×SCA12 (Choco)	SNK16×T60/887 (Choco)	SNK10×IMC67 (Choco)	Mode de détection	Classe chimique	Description olfactive
1	3-méthyl-1-butanol	17,97	0,000±0,000 c	0,051±0,009 c	0,242±0,012 a	0,186±0,042 ab	0,135±0,025 b	0,137±0,027 b	MS, KI	Alcool	Fruité, banane, fermenté, cognac
2	Acétate de 3-méthyl butyl	12,67	0,081±0,027 b	0,000±0,000 c	0,085±0,028 ab	0,131±0,0120 a	0,000±0,000 c	0,048±0,013 bc	MS, KI	Alcool	Fermenté, banane mure, fuité
3	Pentan-2-ol	13,12	0,331±0,005 b	0,147±0,015 d	0,615±0,017 a	0,276±0,0080 c	0,180±0,0170 d	0,182±0,017 d	MS, KI	Alcool	Citron, fruité, lemon gras
4	Heptan-2-ol	25,16	0,870±0,073 c	0,207±0,065 d	0,361±0,091 d	0,288±0,033 d	1,567±0,098b	3,387±0,243 a	MS, KI	Alcool	Fruité, crème, beurre
5	Heptan-2-one	15,57	nd	nd	nd	nd	nd	nd	MS, KI	Cétone	Fruité, noisette, floral, fromage
6	2-méthyl propyl acétate		nd	nd	nd	nd	nd	nd	MS, KI	Ester	Fruité
7	Nonan-2-one	28,90	0,115±0,011 c	0,060±0,009 c	0,177±0,014 c	0,058±0,012 c	0,637±0,187 b	1,755±0,186 a	MS, KI	Ester	Fruité, aromatique
8	Ethyl Acetate	4,55	1,787±0,204 b	3,358±0,509 a	0,901±0,050 cd	1,168±0,133 bc	0,574±0,162 cd	0,476±0,026 d	MS, KI	Ester	Fruité, banane, éthéré
9	2-heptanol, acétate	21,22	0,000±0,000 c	0,000±0,000 c	0,025±0,005 c	0,000±0,000 c	0,187±0,011 b	0,608±0,020 a	MS, KI	Ester	Fruité
10	2,3-Butanediol	38,26	1,194±0,230 b	0,601±0,104 c	2,659±0,218 a	0,690±0,097 c	0,479±0,054 c	0,027±0,008 d	MS	Ester	Fruité, orange, tropical
11	Éthyl benzèneacé- tate	51,61	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	0,259±0,038 a	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	MS	Ester	Doux, fruité, médicinal, cerise, raisin
12	Furanéol	60,99	nd	nd	nd	nd	nd	nd	MS, KI	Cétone	Fruité, ananas, raisin, tomate
Total note "fruité"			4,378±0,596 c	4,424±0,957 c	5,324±0,751 b	2,797±0,357 d	3,759±0,461 d	6,622±1,024 a			
13	Phénéthyl acétate	53,14	0,379±0,036 c	0,177±0,017 c	1,389±0,038 a	0,812±0,197 b	0,200±0,064 c	0,182±0,058 c	MS, KI	Ester	Floral, miel
14	2-phenyl éthanal	43,25	1,047±0,291 bc	0,822±0,160 c	1,649±0,320 ab	0,814±0,257 c	2,126±0,434 a	1,678±0,168 ab	MS, KI	Aldéhyde	Floral, miel
15	2-phényléthanol	57,39	1,892±0,562 c	1,892±0,380 c	7,333±0,698 a	3,709±1,015 b	0,737±0,253 c	1,629±0,483 c	MS, KI	Alcool	Floral, miel, rose, fruité
16	Acétophénone	43,74	0,376±0,018 b	0,265±0,044 b	0,582±0,087 b	0,321±0,096 b	0,974±0,266 a	1,299±0,090 a	MS, KI	Cétone	Floral, amande, piquante, douce
17	Cis-Linalol oxide	34,07	0,050±0,003 bc	0,009±0,002 d	0,087±0,023 ab	0,075±0,018 abc	0,040±0,011 cd	0,096±0,005 a	MS	Terpène	Floral, agrumes, doux, terreux
18	Trans-bêta-ocimène	19,20	0,149±0,024 a	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	0,199±0,063 a	MS	Terpène	Floral, végétal
19	β-Myrcène	14,86	0,020±0,000 b	0,000±0,000 c	0,000±0,000 c	0,000±0,000 c	0,000±0,000 c	0,121±0,014 a	MS, KI	Terpène	Épicé, moût, balsamique
20	o-Xylene	15,38	0,078±0,019 c	0,418±0,075 a	0,243±0,045 b	0,344±0,090 ab	0,197±0,066 bc	0,194±0,017 bc	MS	Terpène	Floral, sucré
21	Linalol	39,01	0,232±0,010 b	0,033±0,007 c	0,063±0,021 c	0,034±0,004 c	0,072±0,014 c	0,347±0,022 a	MS, KI	Terpène	Floral, rose, sucré, vert, agrumes
22	Octan-1-ol	39,05	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	0,018±0,003 a	MS, KI	Alcool	Épicé, vert, boisé, terreux
23	Phénylméthyl acé- tate	49,47	nd	nd	nd	nd	nd	nd	MS, KI	Ester	Doux, floral, fruité, miel, épicé
24	Méthyl benzencacé- tate	50,12	0,024±0,007 b	0,000±0,000 c	0,000±0,000 c	0,000±0,000 c	0,000±0,000 c	0,073±0,013 a	MS	Ester	Floral, doux, miel, jasmin
Total note "floral"			4,247±0,567 c	3,616±0,559 c	11,346±2,091 a	6,109±1,052 b	4,346±0,641 c	5,836±0,645 bc			

25	2-méthyl-butanal	5,00	0,330±0,030 bc	0,210±0,022 cd	0,494±0,046 a	0,187±0,026 d	0,347±0,092 b	0,282±0,033 bcd	MS, KI	Aldéhyde	Chocolat, malt
26	3-méthyl-butanal	5,10	0,784±0,013 a	0,575±0,036 ab	0,646±0,089 ab	0,492±0,066 b	0,723±0,155 ab	0,666±0,121 ab	KI	Aldéhyde	Chocolat, malt
27	Benzaldéhyde	36,28	2,935±0,163 bc	2,120±0,043 c	5,047±0,783 a	1,952±0,290 c	3,881±0,836 ab	3,317±0,624 bc	MS, KI	Aldéhyde	Amande, sucre brûlé
28	2,6-diméthylpyrazine	24,55	0,216± c	1,019±0,140 bc	0,939±0,098 bc	0,221±0,024 c	5,133±0,981 a	1,405±0,114 b	MS, KI	Pyrazine	Chocolat, noisette
29	2,3-diméthylpyrazine	26,01	0,735±0,053 ab	0,592±0,081 b	0,738±0,007 ab	0,129±0,029 c	1,000±0,076 a	0,159±0,067 c	MS, KI	Pyrazine	Caramel, cacao
30	2,3-diméthyl-5-éthylpyrazine	32,37	0,029±0,009 b	0,162±0,004 b	0,231±0,042 b	0,004±0,000 b	0,987±0,340 a	0,215±0,018 b	MS	Pyrazine	Cacao torréfié
31	2,3,5-triméthyl-6-éthylpyrazine	36,56	0,135±0,010 bc	0,103±0,016 bc	0,238±0,035 ab	0,000±0,000 c	0,368±0,116 a	0,000±0,0000 c	MS, KI	Pyrazine	Chocolat, grillé
32	3,5-Diméthyl-2-éthylpyrazine	32,37	0,030±0,009 b	0,162±0,004 b	0,231±0,0423 b	0,003±0,000 b	1,072±0,259 a	0,215±0,018 b	KI	Pyrazine	Torréfié, noisette, café
33	2,3,5,6-Tétraméthylpyrazine	34,19	14,955±0,526 a	4,394±0,372 c	6,812±0,665 b	0,793±0,118 e	2,833±0,868 d	0,348±0,033 e	MS, KI	Pyrazine	Chocolat, cacao, café
34	2,3,5-triméthylpyrazine	29,82	7,859±0,335 b	7,275±0,289 b	8,706±1,073 b	1,671±0,368 c	12,143±2,158 a	1,501±0,193 c	MS, KI	Pyrazine	Cacao, verdure, noisette grillée, moisi
35	2-acétopyrrole	58,84	0,263±0,016 d	0,504±0,064 cd	1,098±0,228 ab	0,198±0,041 d	1,306±0,264 a	0,796±0,192 bc	MS	Pyrrol	Chocolat, noisette, herbal
36	2-formylpyrrole	59,92	0,020±0,000 cd	0,045±0,012 bcd	0,180±0,057 a	0,013±0,001 d	0,088±0,024 bc	0,110±0,018 ab	MS	Pyrrol	Café
	Total note "chocolat / noisette"		28,291±4,521 a	17,161±2,221 b	25,36±2,978 a	5,663±0,671 c	29,881±3,412 a	9,014±0,947 c			
37	2,3-butanedione	6,59	4,677±0,851 a	2,385±0,066 b	3,844±0,271 a	1,318±0,0870 c	1,006±0,190 c	0,507±0,082 c	MS, KI	Cétone	Beurre
38	Butyrolactone	42,18	0,432±0,019 b	0,775±0,018 b	1,474±0,275 a	0,488±0,073 b	0,616±0,151 b	0,590±0,086 b	MS	Lactone	Beurre, crème
39	3-hydroxybutan-2-one (Acétoïne)	22,01	14,851±0,759 a	4,838±0,072 b	14,013±0,550 a	3,342±0,124 c	3,124±0,296 c	0,585±0,027 d	MS, KI	Cétone	Beurre, lait caillé, caramel
	Total note "crème / beurre"		19,96±7,409 a	7,998±2,046 b	19,331±6,661 a	5,148±1,468 b	4,746±1,349 bc	1,682±0,046 c			
40	Acétaldéhyde	2,96	0,216±0,025 a	0,078±0,009 b	0,186±0,01 a	0,098±0,010 b	0,085±0,017 b	0,069±0,009 b	MS, KI	Aldéhyde	
41	Diméthyl sulfide	3,21	0,026±0,001 a	0,018±0,001 b	0,000±0,000 c	0,027±0,001 a	0,000±0,000 c	0,000±0,000 c	MS, KI	Sulfite	
42	2-méthyl-propanal	3,62	0,174±0,016 a	0,116±0,011 ab	0,113±0,016 ab	0,093±0,029 b	0,118±0,030 ab	0,108±0,032 b	MS, KI	Aldéhyde	
43	Méthyl acétate	3,78	31,538±6,172 a	9,829±1,464 bc	9,368±2,115 bc	17,575±3,966 b	2,518±0,709 c	5,606±0,728 c	MS, KI	Ester	
44	2-ethyl-5-méthylfuran	8,47	nd	nd	nd	nd	nd	nd	MS	Furanne	Brûlé
45	2-ethylhexyl tert-butyl Ether	9,43	nd	nd	nd	nd	nd	nd	MS, KI	Ester	Fruité, sucré, ananas, piquant (The Good Scents Company)
46	Éthyl 3-méthylbutanoate	10,09	nd	nd	nd	nd	nd	nd	MS, KI	Ester	
47	Butyl acétate	10,26	3,007±0,687 a	2,650±0,299 ab	1,291±0,215 cd	2,163±0,200 abc	0,598±0,1730 d	1,838±0,480 bc	MS, KI	Ester	Fruité (https://www.cdc.gov/niosh/npg)
48	D-Limonène	15,57	nd	nd	nd	nd	nd	nd	MS, KI	Terpène	Agrumes, menthe

49	Terpinolène	21,88	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	MS	Terpène	Doux, odeur de pin
50	Méthyl lactate	3,78	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	MS, KI	Lactate	
51	3-Ethoxypropyl acétate	27,52	0,064±0,022 a	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	MS, KI	Ester	
52	2,3-butanediol, diacétate A	35,16	0,019±0,004 b	0,013±0,004 b	0,055±0,017 a	0,016±0,001 b	0,060±0,012 a	0,013±0,003 b		MS	Ester	
53	2,3-Butanediol, diacétate B	37,40	0,045±0,014 b	0,000±0,000 c	0,012±0,002 bc	0,000±0,000 c	0,037±0,011 b	0,142±0,023 a		MS	Ester	
54	2,3-Butanediol, [R-(R*,R*)]-	37,55	0,143±0,0198 c	0,000±0,000 c	0,135±0,031 c	0,060±0,009 c	0,808±0,191 b	1,528±0,117 a		MS	Alcool	
55	5 Méthyl furfural	39,08	0,000±0,000 b	0,000±0,000 b	0,033±0,011 a	0,000±0,000 b	0,021±0,005 a	0,000±0,000b		MS, KI	Furanne	Grillé, brûlé
56	1,2-Propanediol, 1-acetate	39,80	0,413±0,052 ab	0,002±0,000 d	0,025±0,007 d	0,224±0,077 c	0,489±0,013 a	0,304±0,077 bc		MS	Ester	
57	Benzonitrile	40,53	0,081±0,007 b	0,032±0,001 c	0,113±0,031 a	0,076±0,009	0,062±0,008 b	0,121±0,031 a		MS	Nitrile	
Total autres composés volatils			35,662±7,409 a	12,738±2,359 c	11,331±2,201 c	20,332±4,135 b	4,796±0,610 d	9,729±1,372 c				
58	Acide acétique	31,80	136,754±8,426 bc	97,053±1,899 d	179,555±3,991 a	120,466±9,088 c	143,129±9,390 b	66,132±4,666 e		MS, KI	Acide	Vinaigre, aigre
59	Acide 3-methylbutanoïque	45,70	3,641±0,401 bc	0,000±0,000 d	2,288±0,757 c	2,600±0,340 bc	7,450±0,600 a	4,505±1,509 b		MS	Acide	Sueur, rance
60	Ethanol	5,59	4,268±0,177 cd	23,149±0,923 a	4,293±0,329 cd	4,618±0,379 c	9,881±0,479 b	3,241±0,192 d		MS, KI	Alcool	Alcool
61	2-méthoxy-Phenol	55,33	0,088±0,020 b	0,000±0,000 c	0,072±0,022 b	0,089±0,028 b	0,163±0,032 a	0,004±0,000 c		KI	Alcool	Boisé, phénol, bacon, fumé
62	Alcool benzylique	56,20	0,041±0,005 b	0,000±0,000 c	0,000±0,000 c	0,045±0,011 b	0,000±0,000 c	0,097±0,012 a		MS, KI	Alcool	Acide, piquant
Total note "indésirable"			144,792±60,291 bc	120,202±42,028 c	186,208±79,575 a	127,81±53,083 c	160,623±62,207 b	73,979±28,764 d				

nd : non détecté ; d : détecté non quantifiable

Les valeurs suivies de la même lettre au sein d'une même ligne ne sont pas significativement différentes au seuil P<0,05 (Test de Tukey).

Description olfactive de : Kadow *et al.* (2013) ; Aprotosoia *et al.* (2016) ; Tuenter *et al.* (2020) ; Utrilla-Vázquez *et al.* (2020) et thegoodscentscompany.com

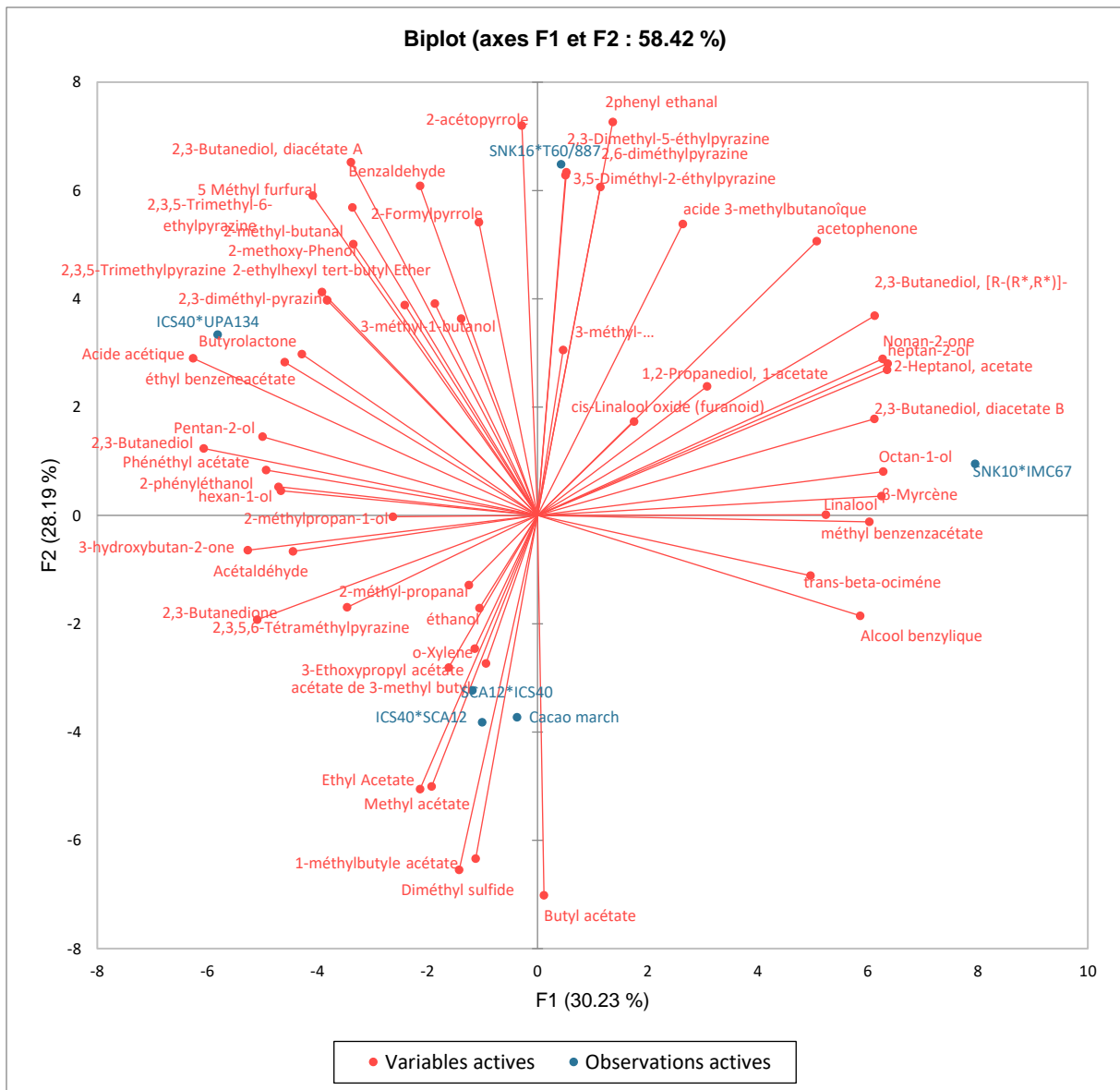


Figure 62: analyse en composantes principales entre les composés volatils obtenus dans les différents chocolats noirs en barrettes

La traçabilité suivie des composés volatils des fèves fermentées/séchées aux fèves torrifiées a été marquée par une légère augmentation de la note "floral" et celle "indésirable" tandis que les autres notes ont diminué. Le passage de la torrification au chocolat noir (*in fine* des fèves au chocolat) a été marqué par une importante diminution de la somme des composés de toutes les notes. Cependant, certains composés majoritaires de chaque note ont montré un comportement propre en fonction des génotypes et des matrices. Nous présentons ci-dessous un des composés majoritaires ayant discriminé les échantillons par note pour chacune des trois matrices suscitées.

Pour la note "fruité", le 2-heptanol, composé discriminant, a une teneur importante chez les deux hybrides SNK. Ce composé a connu une augmentation d'environ 8 % des fèves fermentées/séchées aux fèves torréfiées chez l'hybride SNK10×IMC67 et une baisse significative (17 % environ) chez l'hybride SNK16×T60/887 (Fig. 63). Quel que soit la matrice des fortes teneurs en 2-heptanol ont été importantes chez les deux hybrides SNK.

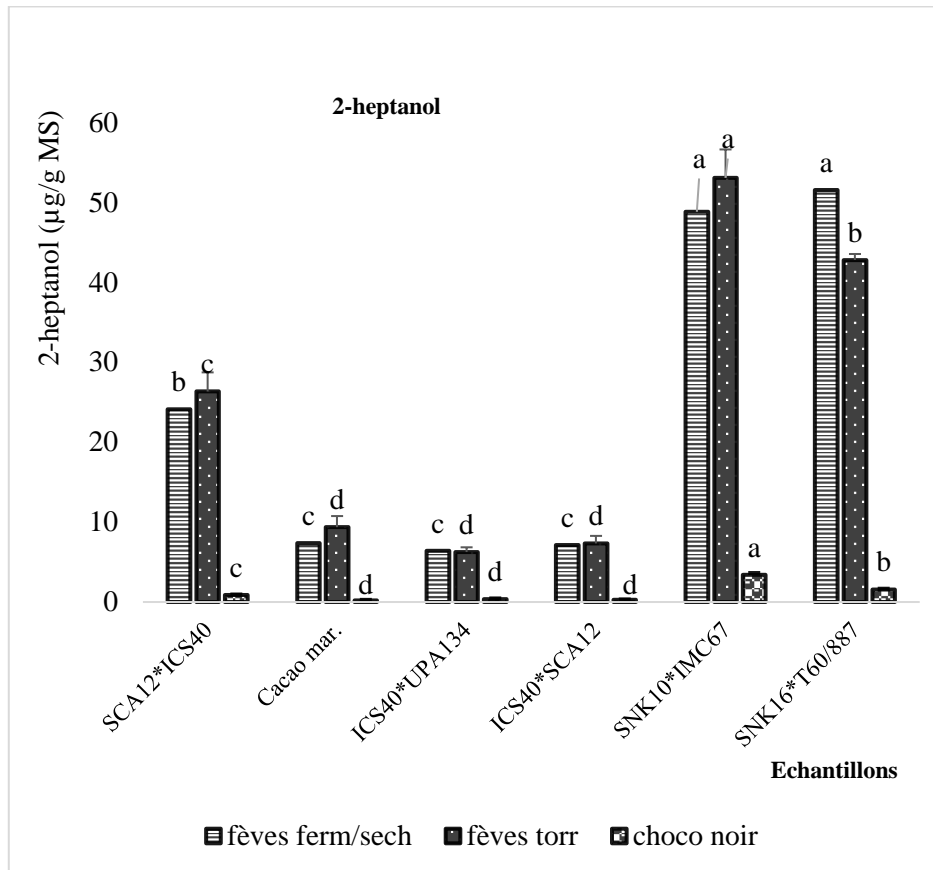


Figure 63: variation du 2-heptanol (composé discriminant de la note "fruité") des fèves fermentées/séchées au chocolat noir. Les valeurs suivies de la même lettre au sein de chaque matrice ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey).

Pour la note "floral", le linalool est le composé discriminant. Mis à part l'hybride SNK10×IMC67 chez lequel la teneur en linalool a connu une diminution (environ 38 %), la teneur en ce composé volatil (avec la description épice, agrume) a connu une légère augmentation des fèves fermentées/séchées aux fèves torréfiées chez les autres échantillons. La transformation des fèves torréfiées au chocolat a été marquée par une réduction fortement significative de la teneur en linalool chez tous les échantillons. Toutefois, ces teneurs ont été importantes chez l'hybride SCA12×ICS40 indépendamment des matrices (Fig. 64).

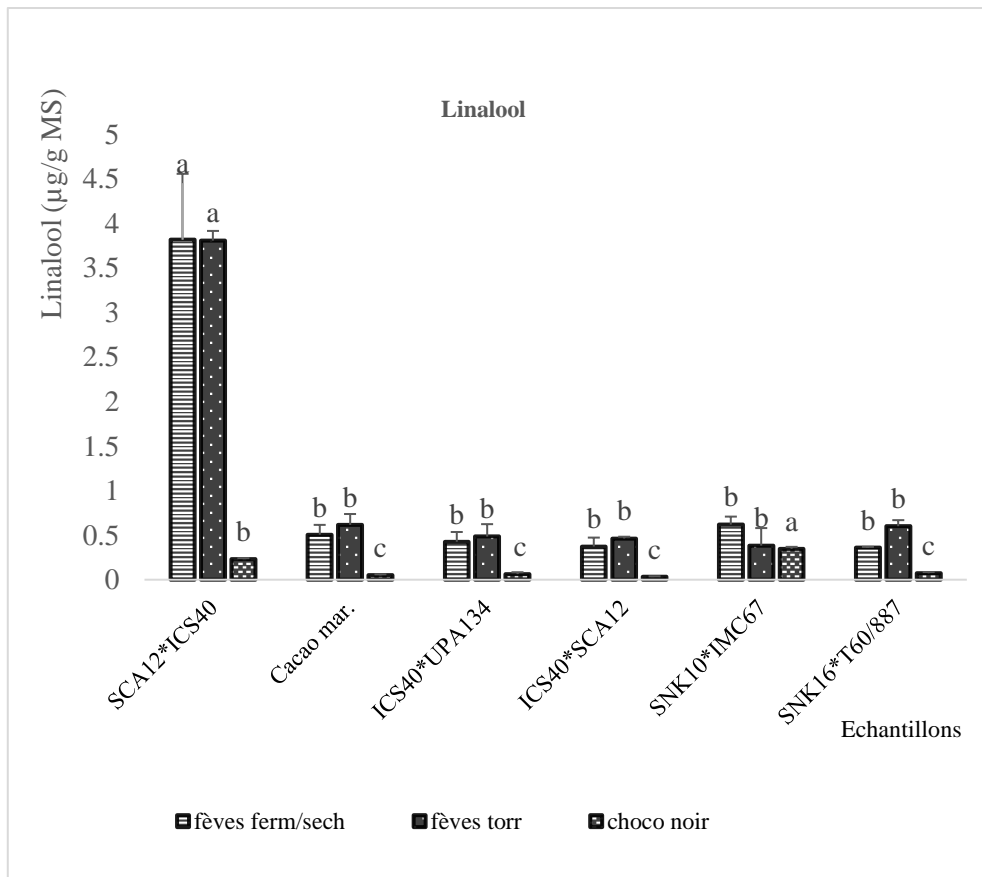


Figure 64: variation du linalool (composé discriminant de la note "floral") des fèves fermentées/séchées au chocolat noir. Les valeurs suivies de la même lettre au sein de chaque matrice ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey).

Prise comme composé majoritaire et fortement discriminant, la 2,3,5,6-tétraméthylpyrazine a fortement contribué à la note "chocolat/noisette" de tous les échantillons et principalement chez les chocolats des hybrides SCA12×ICS40 et ICS40×UPA134 ainsi que le cacao marchand (Fig. 65). La torréfaction a augmenté la teneur en ce composé chez 50 % des échantillons. En revanche, le passage des fèves torréfiées au chocolat a montré de très importantes réductions de la teneur en 2,3,5,6-tétraméthylpyrazine. Visiblement, quel que soit la matrice, la teneur en 2,3,5,6-tétraméthylpyrazine est plus élevée chez l'hybride SCA12×ICS40 et plus faible chez l'hybride SNK16×T60/887.

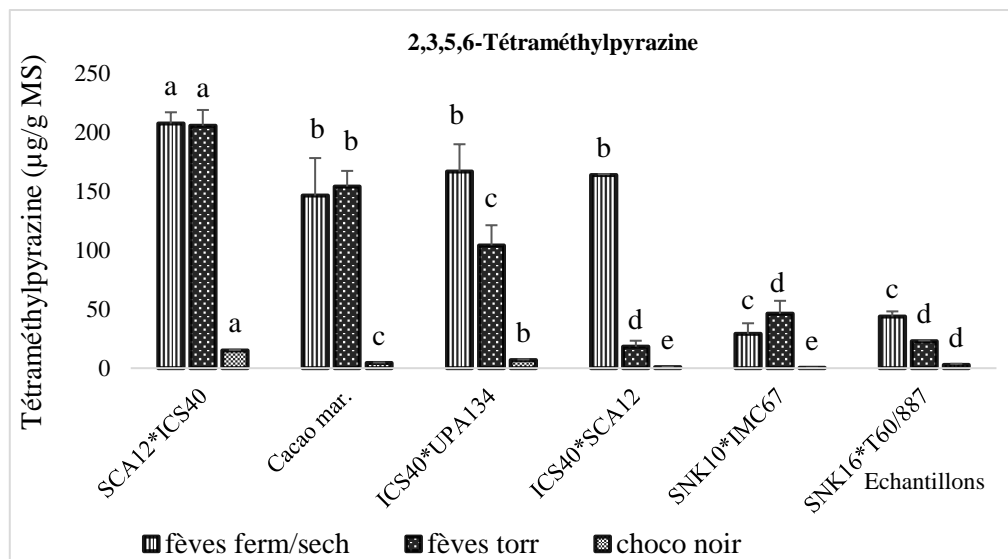


Figure 65: variation de la 2,3,5,6-tétraméthylpyrazine (composé discriminant de la note "chocolat/noisette") des fèves fermentées/séchées au chocolat noir. Les valeurs suivies de la même lettre au sein de chaque matrice ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey).

Quant à la note "crème/beurre", elle a été marquée par l'augmentation généralisée de la teneur en 3-hydroxybutan-2-one (acétoïne) des fèves fermentées/séchées aux fèves torrifiées chez tous les génotypes. Des réductions de la teneur de ce composé entre fèves torrifiées et le chocolat noir ont été observées. De plus, plus les teneurs en acétoïne sont importantes chez un hybride, plus elles le sont dans le chocolat noir correspondant (Fig. 66).

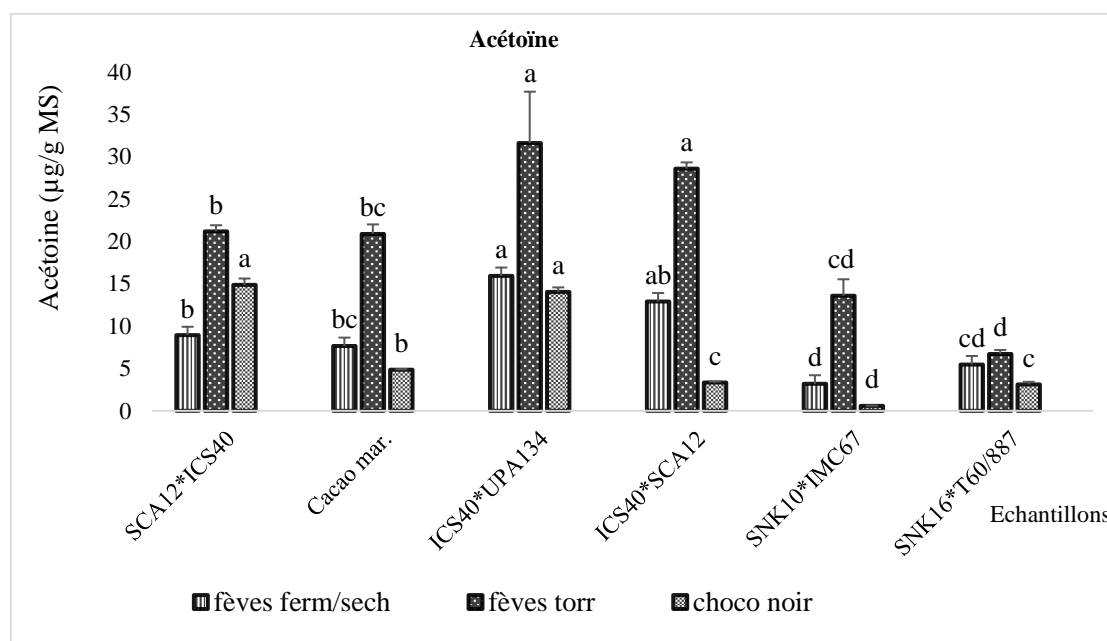


Figure 66: variation de l'acétoïne (composé discriminant de la note "beurre/ crème") des fèves fermentées/séchées au chocolat noir. Les valeurs suivies de la même lettre au sein de chaque matrice ne sont pas significativement différentes au seuil $P < 0,05$ (Test de Tukey).

III.2 Discussion

La demande du cacao et surtout ses sous-produits (chocolat en majeure partie) croît simultanément avec l'augmentation de la population mondiale et le niveau d'industrialisation de certains pays pauvres et émergents. D'autre part, la forte demande du cacao et de ses sous-produits est liée aux résultats concluants et intéressants des travaux qui soutiennent leurs effets bénéfiques sur la santé des consommateurs. Cependant, autant la demande est forte autant les exigences de la qualité des cacaos restent très accentuées dans un marché mondial hautement concurrentiel. Selon Bekele et Phillips-Mora (2019), les travaux sur le cacao et ses produits dérivés devraient s'intéresser sur l'augmentation de la production mais surtout sur l'amélioration de la qualité des fèves produites. Pour ce fait, la maîtrise de la génétique des cacaoyers/cacaos se place au centre d'un réseau de disciplines dont on peut citer entre autres la Physiologie, l'entomologie, la Biochimie, la Phytopathologie et la Chimie des fèves et produits dérivés, la Biotechnologie (multiplication clonale, hybridation intra ou inter-clonale). Ce travail vise la valorisation du cacao camerounais avec en phase sur les *Trinitario*. Au regard de leur qualité organoleptique, de leur résistance héritée, de leur difficulté à produire des hybrides parfaits ajoutée à leur diversité clonale, nous nous sommes fixés pour objectif général de caractériser les génotypes issus des croisements prometteurs, les métabolites de la qualité répertoriés au cours du processus fève-chocolat ainsi que les arômes qui décrivent les notes subtiles de chaque hybride. Il s'est agi de (1) évaluer l'impact de l'origine génétique du pollen sur la compatibilité (intra et intergroupe) et les paramètres agronomiques/physicochimiques (2) étudier la diversité des composés bioactifs et des précurseurs d'arômes et (3) analyser les profils sensoriels et les arômes des fèves et des chocolats correspondants.

III.2.1 Impact de l'origine génétique du pollen

III.2.1.1 Aptitude à la combinaison

Les clones parentaux et les hybrides utilisés dans ce travail ont déjà été étudiés par notre équipe de recherche et ont montré leur tolérance à la pourriture brune causée par *Phytophthora megakarya*. De plus, d'autres hybrides se sont montrés précoces à l'instar de SCA12×ICS40 (Manga *et al.*, 2018).

Les pollinisations intra-groupes (*Trinitario*×*Trinitario*, *Forastero*×*Forastero*) et intergroupe (*Forastero*×*Trinitario* et *Trinitario*×*Forastero*) ont été effectuées. Les croisements *Trinitario*×*Trinitario* ont été peu ou pas compatibles tandis que les autres croisements ont été compatibles. D'après Cope (1932), lorsque les pourcentages de nouaison (compatibilité) entre clones de cacaoyers sont inférieurs à 25 %, ces derniers sont qualifiés d'incompatibles. Beaucoup de travaux ont souligné le phénomène d'incompatibilité gamétophytique (auto ou allo

incompatibilité) chez le cacaoyer. Selon Knight et Rogers (1955) et Lanaud *et al.* (1992), l'incompatibilité est un mécanisme actif et tardif qui s'observe par l'échec de la fusion des gamètes qui a lieu dans le sac embryonnaire. Le phénomène est favorisé par un locus de l'ADN nucléaire multi allélique S. Ce locus multi allélique "S" agit en complémentarité avec deux gènes "A" et "B" indépendants (Cope, 1962). Les plantes incompatibles sont caractérisées par l'hétérogénéité de l'allèle actif S (Eskes et Lanaud, 2001). Bien que l'incompatibilité puisse être réduite en emmenant les allopollens dans un champ, des travaux ont montré que les pollinisations croisées sont préférentiellement effectuées entre plantes voisines (Palanivel et Shah, 2021). Pour cette raison, les plantes compatibles doivent être mises de manière subjacente pour minimiser les effets négatifs de l'incompatibilité sur la productivité (Bekele et Phillips-Mora, 2019). Nos travaux ont donc montré des faibles pourcentages voire des pourcentages nuls entre clones *Trinitario*. L'auto-incompatibilité est fréquente chez les *Trinitario* et est de règle chez la plupart des *Forastero* « hauts-amazoniens ». Ces deux groupes de cacao diffèrent des variétés traditionnellement cultivées telles que le *Criollo*, l'*Amelonado* et le *Nacional* qui sont auto-compatibles (Loor Solórzano, 2007).

III.2.1.2 Critères agronomiques

Les résultats des paramètres agronomiques des hybrides de cacao sont influencés par l'origine génétique du grain de pollen. Certains pollens (à l'instar des pollens ICS40 et SCA12) favorisent l'augmentation de la taille et du nombre de fèves dans les cabosses tandis que les autres se limitent à un des deux paramètres. Les pollens T79/467 n'ont eu aucun effet sur les deux paramètres considérés. Il est bien connu chez les clones auto-incompatibles que les pollinisations contrôlées permettent d'augmenter les paramètres morphologiques et le nombre des fèves par cabosse (Hurtado, 1960). Lachenaud (1991, 1994) a observé que le nombre de fèves de cacao chez le clone SCA6 dépend de la nature du donneur de pollens. Par conséquent, le pollen d'un clone donné peut, au cours d'une fécondation croisée, entraîner une réorganisation morphologique chez la cabosse pour créer un environnement favorable à l'obtention d'un nombre plus important de fèves. Cette réorganisation serait le résultat des mécanismes moléculaires liés à la fusion des deux gamètes. Pour mieux apprécier, observer voire orienter ces changements au donneur de pollens, l'état physiologique et surtout l'état nutritionnel de la plante jouent un rôle prépondérant. Eskes *et al.* (1977) puis Lachenaud (1991) ont montré par exemple qu'il y a réduction de la morphologie des fèves de cacao chez une plante soumise au stress hydrique.

III.2.1.3 Paramètres physicochimiques

La nature du donneur de pollens a exercé une influence sur la masse moyenne des fèves (fraîches et sèches) des hybrides considérés. En effet, dans les conditions physiologiques et nutritionnelles idéales, les masses des cabosses et des fèves qui y sont incrustées peuvent être différentes. Cette différence peut être due aux multiples pollens ayant fécondé la fleur sur le même arbre. Selon Adamako *et al.* (2003), la masse moyenne d'une fève sèche de 1,05 g est la valeur minimale recherchée par les chocolatiers. Tous les hybrides *Trinitario* ont montré des masses moyennes de fèves supérieures à 1,05 g ce qui constitue un paramètre attractif pour la promotion de ces derniers.

En ce qui concerne le test à la coupe des fèves sèches, des pourcentages assez élevés de fèves blanches ont été obtenus chez les clones *Trinitario* à l'exception des hybrides SNK10. Ces pourcentages sont d'autant importants chez les hybrides ICS40 que les hybrides SNK16. Les fèves blanches sont beaucoup plus rencontrées chez les cacaos *Criollo*. Les résultats de Motilal *et al.* (2010) ont montré qu'un certain nombre de clones ICS n'ont que peu d'ascendants *Criollo*. Les résultats de ce travail, quant à eux, par rapport à la coloration blanche, ont montré que les fèves des hybrides ICS40 et SNK16 de cacaos *Trinitario* présentent une similitude avec les *Criollo*. La similitude de pourcentage au sein desdits hybrides témoignerait sûrement l'hypothèse de l'homogénéité génétique des ascendants *Criollo* de ces deux clones *Trinitario* contrairement aux clones ICS étudiés par Motilal *et al.*, (2010).

Le pourcentage de la couleur brune caractéristique de la bonne fermentation, est supérieur à 60 % dans 2/3 des géotypes *Trinitario* obtenus. Selon le standard officiel, un lot de cacao avec un pourcentage de plus de 60 % de fèves brunes après fermentation témoigne d'un bon degré de fermentation. Ces pourcentages sont moyennement bons chez l'hybride *Forastero* et moins bons chez le cacao marchand. Niemenak *et al.* (2014) ont observé des pourcentages très bas chez les cacaos obtenus dans différentes localités du Cameroun. Ces résultats ont montré que la mauvaise qualité des fèves (parfois imputée au cacao camerounais), serait due à leur mauvaise fermentation. Par ailleurs, les résultats des indices de fermentation (IF) ont montré des valeurs supérieures à 1 chez les hybrides *Trinitario* ICS40 et SNK16. Selon Gourieva et Tserevitinov (1979), les cacaos avec un IF supérieur ou égal à 1 ont subi une bonne fermentation. Hinnéh *et al.* (2018) ont montré qu'un cacao fermenté et séché avec remuage chaque deux jours et dont le pré-conditionnement s'est fait pendant sept jours présente des IF et des *Cut-tests* scores supérieurs à 1 et 600 ‰ respectivement. Ces résultats qui vont de pair avec ceux du *Cut-test*, ont bien montré que ces paramètres sont impor-

tants pour évaluer la qualité physicochimique d'un cacao marchand. Une fois de plus les hybrides SNK10 et les cacaos marchands sont en-dessous des standards préconisés.

Une corrélation positive et significative a été observée entre la longueur de la cabosse (LC) et la masse moyenne de la fève (MMF). Iwaro *et al.* (2002) quant à eux, avaient observé une corrélation significative et négative entre la masse moyenne et le nombre de fèves d'une cabosse. Une autre corrélation positive et fortement significative a été observée entre la masse moyenne d'une fève fraîche et celle d'une fève sèche.

Aucune différence n'a été observée entre les hybrides d'un même clone femelle et même entre les cacaos marchands en ce qui concerne les valeurs du pH. Mais des différences entre génotypes distincts du clone femelle ont été observées. Il a été démontré que le pH des fèves marchandes est le résultat des activités enzymatiques qui se déroulent au cours de la fermentation. Les aminopeptidases, invertases, polyphénoloxydases, carboxypeptidases, endoprotéases et glycosidases sont les enzymes majeures responsables des valeurs du pH pendant et après la fermentation (Aprotosoae *et al.*, 2016). L'activité de ces enzymes dépend du génotype, de la durée et la vitesse de fermentation, de la saison et du pré-conditionnement (Afoakwa, 2012 ; Afoakwa *et al.*, 2013). La probabilité mieux la possibilité du grain de pollen à définir le pH d'une fève émane du fait que l'endosperme de la graine est déterminé par les gamètes mâles et femelles au cours de la conjugaison. Les enzymes étant le résultat de l'expression des gènes, différents génotypes auraient différentes activités enzymatiques. Hansen *et al.* (1998), ont étudié les génotypes de dix cacaos différents en rapport avec le pH, ils ont trouvé une différence d'activité enzymatique en fonction des clones. Le pH des hybrides ICS40 est compris entre 4,19 et 5,49. Selon Jinap *et al.* (1994), les cacaos avec un pH compris dans l'intervalle 4,19 et 5,49 sont préférés par les chocolatiers. Une corrélation négative et significative a été observée entre le pH et le *Cut-test* score. Bien que le pollen joue un rôle dans les paramètres physicochimiques qui déterminent la qualité du cacao, il est intéressant de souligner le rôle primordial de la fermentation, de l'environnement, des microorganismes et du séchage pour garantir la qualité du cacao marchand.

III.2.2 Composés bioactifs et précurseurs d'arômes

III.2.2.1 Composés bioactifs

Les pourcentages de polyphénols sont compris entre 4 et 4,91 % de la masse sèche délipidée des échantillons *Trinitario*. Pour les *Forastero* (de parent femelle SCA12), ce pourcentage est autour de 3%. Pourtant, selon les travaux de Albertini *et al.* (2015), les polyphénols représenteraient environ 5 % de la masse de fève *Forastero* après fermentation et séchage. De

même, selon les données de la littérature, il est admis que le groupe *Forastero* est plus riche en polyphénols que le groupe *Trinitario* ce dernier plus riche que le groupe *Criollo* (Tomas-Barberan *et al.*, 2007). Nos résultats ont montré plutôt une corrélation positive entre la masse d'une fève de cacao et le taux en polyphénols. Dans cette relation, il n'est donc pas surprenant que l'hybride SCA12×ICS40 qui possède la plus faible masse moyenne de fèves présente aussi le plus faible taux de polyphénols. A défaut de comparer les teneurs en polyphénols entre clones de cacao, il conviendrait de prendre en compte le critère masse des fèves. Une variation remarquable a été observée entre les teneurs moyennes des polyphénols chez tous les hybrides de cacaos. Selon les résultats de Niemenak *et al.* (2006) et Othman *et al.* (2010) les teneurs en polyphénols solubles totaux sont génotype-dépendantes. Des différences peuvent mêmes également être observées au sein d'un même génotype en fonction d'autres paramètres comme l'état de maturité des cabosses, le pré-conditionnement, la fermentation, le séchage et la durée de conservation (Tomas-Barberan *et al.*, 2007 ; Caligiani *et al.*, 2010). Ainsi, les deux hybrides du parent femelle ICS40 ont présenté une différence significative en polyphénols solubles totaux. De plus, des quantités assez importantes des polyphénols ont été trouvées dans nos hybrides *Trinitario* ce qui montre bien que ces hybrides devraient bénéficier d'une attention particulière.

Les teneurs en flavonoïdes totaux ont montré également une variation dans les différents génotypes considérés. La variation en flavonoïdes ne suit aucune corrélation avec les teneurs en polyphénols. En effet, chaque génotype a montré une variation interne en fonction de la fermentation. Il est connu que la fermentation est l'étape clef des traitements post-récoltes du cacao. Ainsi, c'est durant cette étape que les complexations plus importantes (des monomères aux oligomères voire polymères) des flavonoïdes ont lieu.

Les tannins condensés représentent les molécules les plus complexes de la fève de cacao. Ils sont aussi le groupe le plus largement représenté des polyphénols ($\leq 90\%$) et des flavonoïdes (Khan et Nicod, 2012). Les teneurs en tannins condensés sont génotype-dépendantes et ceci serait dû au métabolisme propre à chaque génotype. En effet, certains génotypes peuvent fortement hydrolyser les anthocyanines en anthocyanidines et en sucres (arabinose et galactose en majorité) au cours de la fermentation. Par suite, les anthocyanidines (connues très instables sous forme aglycone) se polymérisent avec les catéchines pour former les tannins complexes (Wollgast et Anklam, 2000 ; Eyamo *et al.*, 2016). Les teneurs en tannins peuvent aussi varier en fonction des méthodes d'extraction et de quantification utilisées. En effet, les proanthocyanidines sont mal estimées lorsqu'elles sont complexées aux sucres ou aux protéines (Sánchez-Rangel *et al.*, 2013). Une autre influence de la teneur en polyphénols et ses

sous-groupes étudiés est l'engraisement du sol effectué au cours des pollinisations manuelles. En effet, Elwers *et al.*, (2009) ont souligné que la fertilisation du sol peut entraîner une réduction significative de la teneur en polyphénols totaux, en flavan-3-ols et en anthocyanes.

On a constaté une réduction généralisée des polyphénols au cours de la torréfaction. Ces teneurs moyennes sont plus faibles dans les chocolats que les fèves fermentées et séchées. Selon un nombre non négligeable d'études, la température et la durée de torréfaction sont les deux facteurs responsables de la diminution de la teneur moyenne en polyphénols entre les cacaos et leurs produits dérivés (Ramli *et al.*, 2006 ; Schinella *et al.*, 2010). Pour une température de 127 °C pendant 30 minutes, le traitement thermique réduit de 60 % la teneur en proanthocyanidines (Kealey *et al.*, 1998). Une réduction de 80 % a été observée lorsque le cacao était torréfié à 181 °C pendant la même période (Oliviero *et al.*, 2009). En outre, la réduction des polyphénols et de ses sous-classes au cours de la torréfaction pendant le même temps et à la même température est dépendante des génotypes. Chez l'hybride SCA12×ICS40, la teneur moyenne en épicatechine a plutôt augmenté contrairement aux autres hybrides. Selon les travaux de Kothe *et al.*, 2013, les quantités de flavanols peuvent diminuer respectivement d'environ 50% dans les fèves d'une variété et augmenter d'environ 30% dans les fèves d'une autre variété dans les mêmes conditions thermiques. La conservation de ces composés, responsables des bienfaits du chocolat sur la santé, au cours de la torréfaction restent un défi. En effet, selon Guehi (2019), plus le cacao et le chocolat sont transformés plus les polyphénols sont perdus. Nos échantillons ont été torréfiés pendant 20 min à 120 °C et se sont caractérisés par une réduction d'environ 25% des polyphénols. De même, Ramli *et al.* (2006), Kothe *et al.* (2013) et Ioannone *et al.*, (2015) ont montré qu'une torréfaction effectuée entre 5-35 minutes à 120-140 °C serait optimale pour réduire de peu les composés bioactifs et optimiser la qualité du chocolat devant être produit.

Nos résultats ne nous ont pas permis d'obtenir la catéchine qui est un isomère de l'épicatechine. Par contre, plusieurs auteurs ont trouvé la (-)-épicatechine et la (+)-catéchine dans le cacao tandis que leurs stéréo-isomères respectifs étaient parfois présents sous forme de traces. Selon les travaux de Cooper *et al.*, (2007) puis Oracz *et al.*, (2015), la (-)-épicatechine subit une diminution importante entre le deuxième et le troisième jour de la fermentation. Nos échantillons ont passé une étape de pré-conditionnement d'une durée de sept jours, puis une fermentation de six jours avec un remuage chaque 48 heures. Ces deux processus auraient favorisé la réduction en polyphénols. L'épicatechine représente 35 à 37 % du total des polyphénols du cacao. De plus, une réduction de la (+) catéchine a été déjà décrite dans le cacao

après cinq jours de fermentation. Les deux traitements (pré-conditionnement et fermentation prolongée) pourraient donc justifier non seulement l'absence de la catéchine mais également la faible teneur de la (-)-épicatéchine dans nos échantillons. En effet, il a été reporté que la fermentation peut réduire jusqu'à 90 % du total des flavan-3-ols (Kothe *et al.*, 2013). Seuls les hybrides SNK ont présenté les isomères de procyanidine C. L'absence desdites procyanidines dans les fèves/ chocolats de nos échantillons peut être justifiée par les spécificités variétales ou génotypiques. Des études ont également montré que la fermentation entraîne une complexation plus prononcée des proanthocyanidines (Biehl et Ziegler 2003a). Ces complexes importants seraient le résultat de la non détection en UPLC-DAD-ESI(+)-MS car plus la longueur de la chaîne est importante, plus il est assez difficile d'identifier les polymères de proanthocyanidines en chromatographie liquide (Hammerstone *et al.*, 1999). Toutefois, le test au sulfate d'ammonium ferrique utilisant le n-butanol a permis d'obtenir des teneurs importantes en proanthocyanidines totales dans nos échantillons.

Par opposition aux flavanols, les acides (poly)phénoliques sont suffisamment représentés au sein des génotypes de cacao camerounais. Des études ont montré que les acides phénoliques participent significativement à la santé des consommateurs du cacao et de ses produits dérivés. Une torréfaction effectuée entre 110 et 140 °C pendant 15 à 30 minutes augmente le taux d'acides (poly)phénoliques (Aprotosoie *et al.*, 2016). En effet, les acides (poly)phénoliques sont dans la plupart des cas en conjugaison avec d'autres composés (lipides, saccharides, etc...) et la torréfaction contribue à leur décomplexation. L'acide férulique a été reconnu comme exerçant un effet UVB protecteur (Staniforth *et al.*, 2012) et antitumoral/anti angiogénique (Yang *et al.*, 2015). Quant à l'acide chlorogénique abondant dans le café, il est responsable des effets amincisseur et hépatoprotecteur des consommateurs (Salomone *et al.*, 2017).

Une observation attentive a été faite sur les activités enzymatiques chez les six cacaos considérés. En effet, les résultats obtenus ont montré que plus un cacao a une teneur importante en polyphénols moins son activité polyphénoloxydasique est importante. Une forte conversion des polyphénols en pigments colorés (quinones) par les polyphénoloxydases les rend moins disponibles dans les fèves fermentées/séchées. En étudiant la corrélation entre la teneur en polyphénols et les activités PPO/PAL chez certains fruits au cours du stockage, Ortega-Garcia et Peragon (2009) ont observé que des teneurs élevées en polyphénols dans les fruits sont positivement corrélées avec des activités PAL et négativement corrélées avec des activités PPO.

Il est admis que les polyphénols (dont la catéchine, les acides férulique et chlorogénique) ont un potentiel antioxydant démontré *in vitro* et *in vivo* (Lotito et Frei, 2006 ; Othman *et al.*, 2010). Une importante variation a été observée entre les différents échantillons concernant l'activité antioxydante évaluée à partir du réactif FRAP et l'activité antiradicalaire à partir du DPPH. Ces résultats mettent en exergue l'impact de la teneur en composés bioactifs sur le potentiel antioxydant de chaque génotype. En effet, Hernández-Hernández *et al.* (2018) ont montré que les génotypes de cacao avec des teneurs importantes en composés bioactifs ont des EC₅₀ faibles et des activités antioxydantes élevées.

Les résultats des alcaloïdes puriques du cacao ont montré que cette classe de composés dépend de chaque génotype du cacao considéré. Les données de notre analyse ont montré que la théobromine est la méthylxanthine la plus abondante du cacao avec des valeurs comprises entre 12,55 et 24,38 mg/g. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Hernández-Hernández *et al.* (2018). Ces auteurs ont observé non seulement que la théobromine est le métabolite majoritaire des cacaos du Mexique mais également que sa teneur varie en fonction des génotypes. Il y a eu une diminution de la teneur des méthylxanthines des fèves au chocolat. Cette baisse de la teneur en caféine et théobromine serait due à la torréfaction. En effet, Peláez *et al.*, (2016) ont relevé une diminution de la teneur desdites méthylxanthines entre le cacao marchand et la liqueur de cacao. Tout comme la fermentation, la torréfaction favorise une diffusion voire une dégradation des alcaloïdes puriques entraînant une baisse de leur concentration pendant la fabrication du chocolat. Tout comme chez les polyphénols, l'influence de la torréfaction sur la teneur en alcaloïdes puriques est aussi dépendante du génotype.

III.2.2.2 Précurseurs d'arômes

Les résultats des acides aminés libres analysés par chromatographie liquide haute performance des fèves fermentées/séchées ont montré de faibles variations entre les différents génotypes. A l'exception du cacao marchand, les valeurs obtenues sont supérieures à 8mg/g MSD. Selon Rohsius *et al.* (2006), la teneur en acides aminés des fèves fermentées est comprise entre 8-14 mg/g de matière sèche. Les acides aminés sont également connus non seulement comme indicateurs de la qualité organoleptique mais également comme constituants nutritionnels du cacao/chocolat. De manière générale, nos résultats ont montré que le glutamate est l'acide aminé majoritaire de nos échantillons. Ces résultats sont en accord avec ceux de Tchouatcheu *et al.*, 2019 et Niemenak *et al.*, 2021 qui ont évalué les acides aminés libres dans des fèves en fonction des stades de fermentation dans divers clones de cacao. De plus, la leucine faisant partie des acides aminés hydrophobes, est la plus représentée de cette classe. Des observations similaires figurent dans la littérature (Hinne *et al.*, 2018 ; Tchouatcheu *et al.*,

2019 ; Santos *et al.*, 2020). Après fermentation et dans tous les génotypes, le pourcentage des classes des acides aminés varie fortement. Les meilleurs pourcentages 25/47/3/25 % respectivement pour les AA acides/hydrophobes/ basiques/autres, ont été obtenus chez l'hybride ICS40×UPA134. Des pourcentages élevés d'acides aminés hydrophobes ont été associés à la bonne fermentation des fèves (Rohsius *et al.*, 2006 ; Jinap *et al.*, 2008 ; Rottiers *et al.*, 2019). Lorsque le rapport AA hydrophobes/AA acides d'un cacao tend vers 2, cela indique que ce cacao est suffisamment bien fermenté. Une fois de plus, l'hybride ICS40×UPA134 avec un ratio de 1,88 est celui qui présente le meilleur niveau de fermentation de nos échantillons. En revanche, ce ratio est inférieur à 1 chez le cacao marchand. Il est important de souligner que la teneur en acides aminés et le rapport AA hydrophobes/AA acides sont non seulement dépendants de la fermentation, mais également du degré de maturité de la fève et des conditions environnementales (Rohsius *et al.*, 2007 ; Ziegleder, 2009).

La participation des acides aminés principalement les acides aminés hydrophobes aux notes subtiles du cacao est bien connue (Voigt *et al.*, 1994 ; Jinap *et al.*, 2008). Au cours de la fermentation, les acides aminés sont transformés en alcools supérieurs (secondaires et tertiaires) par les levures fermentaires via la voie de Ehrlich. La succession des réactions biochimiques commence par la conversion des acides aminés en 2-cétoacides par les transaminases. Puis une conversion des 2-cétoacides en aldéhydes et alcools respectivement par les carboxylases et les alcools déshydrogénases (Dzialo *et al.*, 2017). Selon les travaux de Ferreira et Guido (2018), l'activité alcool déshydrogénase est fortement active chez les levures fermentaires que les bactéries lactiques. A la fin de la réaction, les alcools supérieurs obtenus sont estérifiés pour former les molécules volatiles (esters) nécessaires pour définir les notes subtiles d'un cacao. D'autre part, les acides aminés hydrophobes qui sont issus de la vicilin-7-(S) globuline suite à l'augmentation de la température dans le milieu fermentaire, de la pénétration des acides acétique et lactique et aussi au métabolisme des microorganismes, interagissent avec les sucres réducteurs pendant la torrification pour former des composés volatils à l'instar des aldéhydes, cétones, pyrazines et furanes définissant de l'arôme chocolat (Biehl et Passern 1982 ; Afoakwa *et al.*, 2008 ; Crafacck *et al.*, 2014 ; Rottiers *et al.*, 2019). Un acide aminé non protéinogène, l'acide gamma aminobutyrique (GABA), a été obtenu avec de fortes teneurs qui varient d'un génotype à l'autre. Cet acide aminé a également été obtenu par Tchouatcheu *et al.*, (2019). A date, la présence de cet acide dans les fèves de cacao n'est pas suffisamment élucidée. Néanmoins, des études ont montré que la réduction du pH des fèves et l'absence d'oxygène au début de la fermentation seraient les deux événements nécessaires pour la production du GABA dans les fèves fermentées/séchées (Bown and Shelp, 1997). En

effet, en absence d'oxygène, il y a déséquilibre du complexe Ca^{2+} /calmoduline ce qui entraîne une augmentation de la concentration en Ca^{2+} dans le cytosol. Cette augmentation entraîne une activation de la glutamate carboxylase qui va convertir l'acide glutamique en GABA à pH acide modéré.

L'augmentation des sucres réducteurs durant la fermentation est bien connue (Rottiers *et al.*, 2019 ; Niemenak *et al.*, 2021). Cependant, l'effet génotype sur l'augmentation de la teneur des sucres réducteurs en fermentation-like (fermentation *in vitro*) n'a pas été observé (Niemenak *et al.*, 2021). Nos résultats ont plutôt montré qu'en fermentation naturelle, la teneur en sucres réducteurs varie en fonction des génotypes. En effet, la teneur en sucrose dans la pulpe varie en fonction de l'épaisseur, du degré de maturité et de la densité de la pulpe. Par conséquent, la variation des sucres réducteurs provenant de l'hydrolyse du sucrose serait différente. La différence en sucres réducteurs peut également être observée chez un même cacao en variant le mode ou la durée de fermentation (Rottiers *et al.*, 2019). Les plus grandes teneurs en sucrose, glucose et fructose qui sont les trois principaux sucres de la fève de cacao fermentée, ont été obtenues chez l'hybride de parent femelle *Forastero* SCA12. En réalité, au-delà du caractère "trop sucré" de la pulpe de l'hybride SCA12×ICS40, les données des trois sucres susmentionnés vont de pair avec le temps de pré-conditionnement et le degré de fermentation des fèves (Puziah *et al.*, 1998a ; Afoakwa *et al.*, 2011). Les sucres réducteurs (glucose et fructose en majorité) participent à la formation de multiples composés volatils d'intérêt chez le cacao au cours de la torréfaction (pyrroles et dérivées, alcool benzylique et dérivées, éthyl acétate, furanes et dérivées, acide acétique, etc...) des fèves (Afoakwa *et al.*, 2008 ; Ge *et al.*, 2021).

III.2.2.3 Profils sensoriels et composés volatils (arômes)

La description olfactive par un panel d'experts d'une matrice alimentaire ou pharmaceutique est une méthode empirique de l'évaluation directe de l'arôme ou du goût afin de donner une appréciation générale de l'aliment ou du médicament. En maintenant la matrice dans un état plus ou moins stable, l'évaluation de l'arôme de l'aliment (ou médicament) se fait de manière répétitive sur une période précise afin de garantir la répétabilité des résultats. Les résultats obtenus par le panel d'experts sur les différents chocolats ont montré des différences remarquables basées sur les 13 descripteurs considérés chez chacun des chocolats. Une superposition des résultats sur une même échelle des données a réparti les six chocolats en 4 sous-groupes. Ainsi, les deux hybrides ICS40 ont présenté presque le même profil sensoriel idem pour les hybrides SNK10 et SNK16. En effet, il a été démontré que l'origine génétique du

pollen avait un faible impact sur le profil sensoriel des hybrides ayant le même parent femelle (Sukha *et al.*, 2017). Bien que le cotylédon (endosperme) soit issu de la fusion des deux gamètes femelle et male, des travaux ont montré que le profil sensoriel de l'endosperme est majoritairement influencé par le mucilage et la pulpe qui l'entourent. Ce mucilage et cette pulpe sont issus d'une héritabilité maternelle (Fang *et al.*, 2014). De plus, Eskes *et al.* (2012) ont souligné que l'arôme de la pulpe influence le cotylédon et est souvent ressenti dans le chocolat lorsque les conditions de production sont maîtrisées. Les profils générés à partir des résultats de l'analyse sensorielle chez les chocolats SNK et ceux des ICS sont clairement différents. Ces résultats expliqueraient l'éloignement génétique entre les deux types de cacao ayant servi de matrice pour la production des différents chocolats. En effet, les études ont montré que différentes variétés de cacao ont différents profils aromatiques (Kadow *et al.*, 2013).

Dans le but de vérifier si le profil sensoriel se rapproche des molécules qui influencent une certaine description olfactive des banques de données, il est recommandé de coupler l'analyse sensorielle à l'analyse chimique. C'est dans cette optique que l'analyse en HS-SPME-GC-MS a été entreprise avec les échantillons de fèves fermentées/séchées de chaque hybride, les fèves torréfiées et leur chocolat noir correspondant. Au total, entre 55 et 63 molécules ont été identifiées et quantifiées en fonction des hybrides et entre 40 et 63 en fonction des matrices.

Il est connu que le nombre de composés pouvant décrire la note d'un cacao/chocolat varie selon les génotypes, les régions, les traitements post-récoltes et les technologies appliquées à la matrice. Rodriguez-Campos *et al.* (2011) ont trouvé 34 composés volatiles au cours de la fermentation du cacao du Mexique. De même, Perotti *et al.* (2020), ont décrit 55 composés impactant la qualité aromatique du cacao de plusieurs origines. Les composés volatils obtenus dans notre étude ont été groupés en fonction de la note générale qu'elles décrivent. Il est possible qu'une même note soit décrite par plusieurs composés volatils de classe chimique différente. Si la somme des arômes exprimés pour une note varie en fonction des hybrides, la teneur d'un composé varie aussi au sein de chacun des hybrides. La description des notes subtiles a été effectuée avec les fèves fermentées/séchées. En effet, Rottiers *et al.* (2019) ont montré que la fermentation entraîne une augmentation significative des teneurs en composés volatils clés du cacao. Cinq notes ont été décrites dans nos résultats et quatre (ceux qui intéressent le plus les consommateurs et les chocolatiers) ont été considérées. Il s'agit des notes fruité, floral, chocolat/noisette et crème/beurre. Une dernière classe regroupe les composés non décrits.

Considérant la note "fruité" décrite par 13 composés, le composé majoritaire chez l'hybride SCA12×ICS40 est l'éthyl acétate (39,47 %) tandis que chez l'hybride réciproque ICS40×SCA12, c'est plutôt l'isoamyl acétate ou acétate de 3-méthylbutyle (30,27 %). Chez les hybrides SNK, le 2-heptanol a été le composé majoritaire soit 46,65 et 43,69 % respectivement pour SNK10×IMC67 et SNK16×T60/887. En effet, Kadow *et al.* (2013) ont trouvé qu'un ou deux composés volatils sont majoritaires au sein d'un génotype donné. Nos résultats ont discriminé d'une part les hybrides entre eux et d'autre part lesdits hybrides du cacao marchand car ce dernier n'a présenté aucun composé avec un pourcentage important pour la note "fruité".

Pour la note "floral" décrite 12 composés, l'hybride SCA12×ICS40 a présenté les plus fortes teneurs en terpènes (Trans-bêta-ocimène, bêta -myrcène et linalool). Chez les hybrides ICS (ICS40×SCA12 et ICS40×UPA134), le composé majoritaire est le 2-phényléthanol et son pourcentage est de 45,56% pour le premier et de 55,08 % pour le second. Quant aux hybrides SNK, c'est plutôt l'acétophénone avec des pourcentages de 56,94 et 68,80 % chez SNK10×IMC67 et SNK16×T60/887 respectivement. Ces pourcentages montrent des paires créées entre génotypes pour des composés d'une note donnée. La différence de pourcentage en composés volatils chez les six génotypes montre bien que ces cacaos sont différents bien que des similitudes existent entre les paires citées plus haut. En effet, ces composés sont liés à des voies de biosynthèse différentes faisant l'objet de régulations génétiques. Selon Sabau *et al.* (2006), trois principales voies de synthèse des composés volatils sont courantes chez les plantes : -la voie de dégradation des alcools et aldéhydes à courte chaîne (pentanal, heptan-2-ol, etc...) ; -la voie de l'acide shikimique qui favorise la synthèse de l'eugénol (cloves), t-anéthol (anise), etc... et enfin -la voie des terpénoïdes qui se traduit par la synthèse des composés comme le linalool (cacao), le géraniol (rose), le 1,8-cinéole (eucalyptus) et le menthol (peppermint). L'hybride SCA12×ICS40 est très riche en terpènes plus particulièrement le linalool et le β-myrcène qui dérivent de la voie des phénylpropanoïdes avec les oses comme précurseurs des réactions biochimiques. La teneur en linalool est corrélée à la note subtile "arôme épice" chez le cacao (Counet *et al.*, 2004 ; Liu *et al.*, 2015). Les valeurs obtenues du β-myrcène et du linalool chez le génotype SCA12×ISC40 sont assez importantes pour que cet hybride soit qualifié de cacao fin. En effet, selon Ziegler (1990), lorsqu'un cacao a des teneurs en linalool supérieures à 0,8 µg/g, ce cacao est dit fin.

La teneur en pyrazines et benzaldéhyde qui définit la note "chocolat/noisette" (décrite par 12 composés), bien que différente en fonction des hybrides, est forte dans tous les génotypes. Deux pyrazines sont majoritairement représentées : la 2,3,5,6-tétraméthylpyrazine suivi

de la 2,3,5-triméthylpyrazine. Ces résultats sont en accord avec ceux de Jinap *et al.* (2008) ; Rodriguez-Campos *et al.* (2011) ; Koné *et al.* (2016) ; Moreira *et al.*, (2021) qui ont trouvé que la 2,3,5,6-tétraméthylpyrazine est la pyrazine la plus fréquente et la plus abondante des fèves fermentées/séchées. En pratique, la présence des pyrazines dans les fèves fermentées/séchées est non seulement un indicateur de la bonne fermentation, mais également la prédiction de la bonne qualité aromatique des fèves (Jinap *et al.*, 1994). Connue comme un composé d'odeur forte, le benzaldéhyde est le plus important aldéhyde retrouvé dans les fèves fermentées/séchées et torréfiées. Selon nos résultats, Il est le deuxième composé le plus abondant décrivant la note "chocolat/noisette" du cacao après la 2,3,5,6-tétraméthylpyrazine. Des auteurs ont mentionné que le benzaldéhyde proviendrait de la phénylalanine présente dans les cotylédons des fèves de cacao (Afoakwa *et al.*, 2008 ; Rottiers *et al.*, 2019).

La note "crème/beurre" est seulement décrite par trois composés à savoir la butyrolactone, l'acétoïne et la 2,3-butanedione. Ce dernier composé est le composé majoritaire (44,39 à 75,57 %) de la note "crème/beurre" indépendamment des hybrides.

Les cinq notes décrites avec les fèves fermentées/séchées ont été aussi observées au niveau des deux autres matrices (fèves torréfiées et chocolat noir). Nos résultats ont montré une augmentation importante de certains composés volatils au cours de la torréfaction. Des résultats similaires ont été obtenus par Alvarez *et al.* (2016). Cependant, nos résultats ont montré que la transformation des fèves torréfiées en chocolat s'accompagne par une chute drastique de tous les composés volatils. En effet, des études ont souligné que la production du chocolat diminue les notes subtiles liées à l'origine génétique du cacao (Portillo *et al.*, 2009 ; Liu *et al.*, 2015 ; Tuenter *et al.*, 2020). Au cours de la production du chocolat, les différentes étapes sont effectuées au contact de l'air ce qui favorise la volatilisation des composés avec pour corollaire la réduction des notes subtiles du chocolat correspondant.

In fine, les différences observées entre les composés définissant les notes subtiles sont beaucoup plus quantitatives que qualitatives.

CHAPITRE IV : CONCLUSION
ET PERSPECTIVES

IV. 1 Conclusion

Arrivés au terme de ce travail qui avait pour objectif de caractériser les génotypes, les métabolites et les arômes de quelques hybrides de cacao du Cameroun, nous pouvons conclure que :

Le degré de compatibilité entre clones ou l'aptitude générale à la combinaison d'un clone dépend de l'origine génétique du pollen. De plus, l'origine génétique du pollen exerce une influence sur les critères agronomiques (nombre de fèves par cabosse, poids moyen de cabosses et épaisseur du cortex de la cabosse). En revanche, l'origine génétique du pollen n'a exercé aucune influence sur les paramètres physico-chimiques évalués (*Cut-test*, pH et IF) et ces derniers ont été influencés par les traitements post-récoltes. Les pourcentages de croisements entre *Trinitario* du Cameroun sont très bas voire nuls. En revanche, une hybridation intergroupe *Trinitario* et *Forastaro* donne des résultats satisfaisants. Cette information devrait servir au sein des structures de multiplication et d'hybridation du cacao.

En ce qui concerne les composés bioactifs (polyphénols et alcaloïdes puriques) et les précurseurs d'arôme (sucres réducteurs et acides aminés libres) des cacaos/chocolats, il ressort que la teneur en biomolécules dépend de la variété (mieux de l'hybride), des traitements post-récoltes et thermiques. Les hybrides ICS40 ont présenté de fortes teneurs en caféine, marqueur discriminant la qualité des cacaos. Les polyphénols totaux sont fortement représentés chez les cacaos SNK alors que l'épicatéchine l'est chez les ICS40. Les sucres réducteurs sont en majorité concentrés chez le SCA12. L'activité polyphénoloxydase est importante chez les cacaos de faible teneur en polyphénols. Le cacao marchand a présenté les marqueurs de qualité de cacao en dessous de la moyenne ce qui témoigne le non-respect ou la non-maitrise des traitements post-récoltes par les cacaoculteurs. La procyanidine C1 a permis de discriminer les cacaos *Trinitario* : les ICS40 et les SNK.

Quant aux profils sensoriels décrits par le jury d'experts, il en ressort les notes fruitée, florale, épicée, miel qui sont recherchées par les chocolatiers et les consommateurs. La confirmation des données de cette analyse sensorielle a été obtenue par les composés chimiques volatils détectés en chromatographie en phase gazeuse. Les composés tels que le linalool, le myrcène et la trans-bêta-ocimène décrivent la note "floral" de certains hybrides (SCA12×ICS40). De plus, l'acétate de 3-méthylbutyle (ou isoamyl acétate) et le 2-heptanol décrivent les arômes banane et crème de la note "fruité" respectivement chez les hybrides ICS40 et SNK. Ces résultats indiquent que, par de bonnes pratiques de traitements post-récoltes, les hybrides suscités peuvent être considérés comme des cacaos "fins". Le mouve-

ment culturel du cacao devrait donc s'orienter vers ces nouvelles "niches à haute valeur" ajoutée afin d'augmenter les revenus des cacaoculteurs et booster l'économie du pays.

IV. 2 Perspectives

Les objectifs définis dans ce travail ont été atteints. Pour l'améliorer, nous nous proposons dans un futur proche de :

- 1- impliquer un plus grand nombre de clones dans les croisements afin d'obtenir des informations quasi complètes sur l'aptitude générale à la combinaison des clones disponibles au Cameroun;
- 2- analyser les arômes à partir de la fève fraîche et d'autres composés impliqués dans la qualité du cacao (acides gras, éléments minéraux, fibres et vitamines)
- 3- mettre sur pied une entreprise de production du chocolat supérieur avec des arômes recherchés par les consommateurs et les industriels.

BIBLIOGRAPHIE

- Addai, F.K. (2010). Natural cocoa as diet-mediated antimalarial prophylaxis. *Medical Hypotheses*, 74: 825–830.
- Adeyeye, E.I., Akinyeye, R.O., Ogunlade, I., Olaofe, O., Boluwade, J.O. (2010). Effect of farm and industrial processing on the amino acid profile of cocoa beans. *Food Chemistry*, 118, 357-363.
- Adomako, B., Adu-Ampomah, Y., 2003. Bean characteristics of progenies of upper Amazon cacao in Ghana. *Tropical Agriculture*, (Trinidad). 80 (1), 41–47.
- Afoakwa, E.O., Peterson, A., Fowler, M., Ryan, A. (2008). Flavor formation and character in cocoa and chocolate: a critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48:840–57.
- Afoakwa, E. O., Quao, J., Takrama, J., Budu, A. S. and Saalia, F. K. (2011). Chemical composition and physical quality characteristics of *Ghanian cocoa* beans as affected by pulp pre-conditioning and fermentation. *Journal of Food Science and Technology*, 47(1): 3–11.
- Afoakwa, E.O., Quao, J., Takrama, J., Budu, A.S., Saalia, F.K. (2013). Chemical composition and physical quality characteristics of Ghanaian cocoa beans as affected by pulp pre-conditioning and fermentation. *Journal of Food Science and Technology*, 50(6):1097–1105.
- Akrofi, A.Y., Appiah, A.A., and Opoku, I. Y. (2003). Management of *Phytophthora* pod rot disease on cocoa farms in Ghana. *Crop Protection*, 22, 469-477.
- Almoosawi, S., Fyfe, L., Ho, C., and Al-Dujaili, E. (2010). The effect of polyphenol-rich dark chocolate on fasting capillary whole blood glucose, total cholesterol, blood pressure and glucocorticoids in healthy overweight and obese subjects. *British Journal of Nutrition*. 103: 842–850.
- Álvarez, C., Pérez, E., Lares, M.D.C., Boulanger, R., Davrieux, F., et al. (2016). Identification of the Volatile Compounds in the roasting Venezuela Criollo cocoa beans by Gas Chromatography-Spectrometry Mass. *Journal of Nutritional Health and Food Engineering*, 5(4): 00178. <http://DOI:10.15406/jnhfe.2016.05.00178>

- Alverson, W.S., Whitlock, B.A., Nyfeller, R., Bayer, C., and Baum, D.A. (1999). Phylogeny of the core Malvales: evidence from NDHF sequence data. *American Journal of Botany*, 86:1474–86.
- Andujar, I., Recio, M.C., Giner R.M., and Rios J.L. (2012). Cocoa polyphenols and their potential benefits for human health. *Oxidative Medecine and Cellular Longevity*. Article ID 906252, 23 pages. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/906252>. Accessed 2018 October 18.
- Anonyme 1. (1981). Genetic resources of cocoa. (AGP: IBPGR/80/56). IBPGR Working Group on genetic resources of cocoa, IBPGR Secretariat: Rome, Italy. pp. 25
- Anonyme 2. Les relations entre les plantes et leurs pollinisateurs : une question d'évolution. Vincent Chassany. vincent.chassany@univ-paris-diderot.fr
- Aprotosoia, A.C., Luca, S.V., and Miron, A. (2016). Flavor chemistry of cocoa and cocoa products-an overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 73–91.
- Apriyanto, M., Supriyanto, S., and Eni, H. (2016). Study on effect of fermentation to the quality parameter of cocoa bean in Indonesia. *Asian Journal Dairy and Food Research*, 35 (2):160-163.
- Argout, X., Salse J.,Aury J.M., Gultinan M.J., Droc G., Gouzy, J., and Brunel D. (2011). The genome of *Theobroma cacao*. *Nature Genetics*, 43(2):101–108.
- Assoumou, J. (1977). L'économie du cacao. Jean pierre Delarge, Paris (France), pp. 351-380.
- Autorité Portuaire Nationale. (2020). Rapports sur la situation des Entreprises publiques et des Etablissements publics.
- Autorité Portuaire Nationale. (2020). Rapports sur la situation des Entreprises publiques et des Etablissements publics.
- Badrie, N., F. Bekele, E. Sikora, and M. Sikora. 2015. Cocoa agronomy, quality, nutritional, and health aspects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 55 (5):620–659.
- Bailey, S.D., Mitchell, D.G., Bazinet, M.L., and Weurman C. (1962). “Studies on the Volatile Components of Different Varieties of Cocoa Beans.” *Journal of Food Science* 27 (2): 165–170. <http://dx.doi:10.1111/j.1365-2621.1962.tb00076.x>.
- Bahorun, T., Grinier, B., Troitin, F., Brunet, G., Pin, T., Luncky, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, C., and Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46(11): 1086-1089.
- Barel, M. (2016). *Du cacao au chocolat : l'épopée d'une gourmandise*. Versailles: Quae.

- Bartley, G. *The Genetic Diversity of Cacao and Its Utilization*; CABI Publishing: Wallingford, UK, 2005.
- Beckett, S.T. (2008). *The science of chocolate*. 2nd ed. Cambridge: RSC Publishing.
- Benzie, I.F., and Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': the FRAP assay. *Anal of Biochemistry*, 239, 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Biehl, B., and Ziegleder, G. (2003a). Cocoa: chemistry of processing. In: Caballero B, Trugo L, Finglas PM, editors. *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. 2nd ed. New York: Academic Press. p 1436–1448.
- Biehl, B., and Ziegleder, G. (2003b). Cocoa: production, products, and use. In: Caballero B, Trugo L, Finglas M, editors. *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. 2nd ed. New York: Academic Press. p 1448–63.
- Bekele, F., and Phillips-Mora, W. (2019). Advances in plant Breeding. *Industrial and Food Crops*, Vol 6 http://doi.org/10.1007/9789-030-23265-8_12
- Bisson, J. F., Hidalgo, S., and Rozan, P. (2006). Messaoudi, M. Preventive Effects of ACTICOA Powder, a Cocoa Polyphenolic Extract, on Experimentally Induced Prostate Hyperplasia in Wistar-Unilever Rats. *Journal of Medicinal Food*, 10(4): 622-627.
- Bisson, J.F., Guardia-Llorens, M.A., Hidalgo, S., Rozan, P., Messaoudi, M. (2008). Protective effect of Acticoa powder, a cocoa polyphenolic extract, on prostate carcinogenesis in Wistar-Unilever rats. *European Journal of Cancer Prevention*, 17(1): 54-61. <http://doi.org/10.1097/CEJ.0b013e3280145b33>
- Boizot, N., and Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières. *Laboratoire d'Analyses Biochimiques : Le Cahier des Techniques de l'Inra*, 79-82.
- Bonvehí, J.S. and Coll, F.V. (2002). Factor affecting the formation of alkylpyrazines during roasting treatment in natural and alkalized cocoa powder. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13): 3743-3750.
- Borrone, J.W., Meerow, A.W., Kuhn, D.N., Whitlock, B.A., and Schnell, R.J. (2007). The potential of WRKY gene family for phylogenetic reconstruction: an example from the *Malvaceae*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44, 1141-1154.
- Boulangier, R., Michodjehoun-Mestres, L., Assemat, S., Portillo, E., Davrieux, F., Cros, E. (2010). Influence of post-harvest processing on flavour quality of cocoa Trinitario of Venezuela. In: 15th International Cocoa Research Conference: cocoa productivity, quali-

- ty, profitability, human health and the environment, 1341-1345. 15, San José, Costa Rica, October 9, 2006.
- Bown, A.W., and Shelp, B.J. (1997). The metabolism and functions of aminobutyric acid. *Plant Physiology*, 115 :1–5
- Bracke, M.E, Van Larebeke, N.A., Vynckle, B.M., Mareel, M.M. (1991). Retinoic acid modulates both invasion and plasma membrane ruffling of MCF-7 human mammary carcinoma cells in vitro [published erratum appears in Br J Cancer 1992:65:486]. *British Journal of Cancer*, 63:867-72.
- Braudeau, J. (1969). *Le cacaoyer*. Maison neuve et Larousse, Paris (France), 304 p.
- Camu, N., De Winter, T., Addo, SK., Takrama, J.S., Bernaert, H., and De Vuyst, L. (2008). Fermentation of cocoa beans: influence of microbial activities and polyphenol concentrations on the flavour of chocolate. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 88:2288–2297.
- Cheesmann. (1944). Notes on the 9 nomenclature, classification, and possible relationships of N cocoa population. *Tropical Agriculture*, 21: 144-159.
- Coe, S.D., and Coe, M.D. (2013). *The True History of Chocolate*, 3ème édition, Thames & Hudson. p 112.
- Collin, S., Bröhan, M., Laille, J., Counet, C., and Nguyen, F, (2011). “Les Polyphénols dans les produits cacaotés et dans le Chocolat. Impact des procédés de fermentation, de torréfaction et de conchage.” In *Polyphénols et Procédés*, edited by S. Collin and J. Crouzet. Paris: Tec & Doc. pp 69-101
- Cooper, K. A., Campos G.E., Jiminez A.D., Nagy, K., Donovan, J.L., and Williamson, G. (2007). Rapid reversed phase-ultra performance liquid chromatography analysis of the major cocoa polyphenols and interrelationships of their concentrations in chocolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55:2841-2847.
- Cope, F.W., (1962). The mechanism of pollen incompatibility in *Theobroma cacao*. *Heredity*, 17 (2), 157–182.
- Cosme, S., Cuevas, H.E, Zhang, D., Oleksyk, T.K., and Irish, M.B.M. (2016). “Genetic Diversity of Naturalized Cacao (*Theobroma Cacao* L.) in Puerto Rico.” *Tree Genetics & Genomes* 12 (5): 2942-2950 <https://doi:10.1007/s11295-016-1045-4>
- Counet, C., Callemien, D., Ouwerx, C., and Collin, S. (2002). Use of gas chromatography-olfactometry to identify key odorant compounds in dark chocolate. Comparison of samples before and after conching. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8):2385–2391.

- Counet, C., and Collin, S. (2003). Effect of the Number of Flavanol Units on the Antioxidant Activity of Procyanidin Fractions Isolated from Chocolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:6816-6822. <https://doi:10.1021/jf030349g>
- Counet, C., Ouwerx, C., Rosoux D., and Collin, S. (2004). Relationship between procyanidin and flavor contents of cocoa liquors from different origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (20): 6243–6249. <https://doi:10.1021/jf040105b>
- Counet, C., Callemien, D., and Collin, S. (2006). Chocolate and cocoa: New sources of trans-resveratrol and trans-piceid. *Food Chemistry*, 98, 649–657. <https://doi:10.1016/j.foodchem.2005.06.030>
- Cuatrecasas, J. (1964). Cacao and its allies: A taxonomic revision on the genus Theobroma. *Bulletin of the United States National Museum. Washington: Smithsonian Institution*, 35, 79-614.
- Crafack, M., Keul, H., Eskildsen, C. E., Petersen M. A., Saerens, S., Blennow A., Skovmand-Larsen, M., Swiegers, J. H., Petersen, G. B., Heimdal, H., and Nielsen, D. S. (2014). Impact of starter cultures and fermentation techniques on the volatile aroma and sensory profile of chocolate. *Food Research International*, 63:306–316. <https://doi:10.1016/j.foodres.2014.04.032>
- Czerny, M., and Grosch, W. (2000). Potent odorants of raw Arabica coffee. Their changes during roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(3):868–872.
- Czerny, M., Christlbauer, M., Fischer, A., Granvogl, M., Hammer, M., Hartl, C., Moran Hernandez, N., and Schieberle, P. (2008). Re-investigation on odor thresholds of key food aroma compounds and development of an aroma language based on odour qualities of defined aqueous solutions. *European Food Research and Technology*, 228(2):265–73.
- Danby, F.W. (2005). Acne and milk, the diet myth, and beyond. *Journal of American Academy of Dermatology*, 52: 360-362
- Dannau, S. (2017). Tentative d’authentification d’un chocolat produit à partir de fèves criollo par l’analyse conjointe de ses arômes et de ses polyphénols. Mémoire de fin d’études présenté en vue de l’obtention du diplôme de Master de bioingénieur : chimie et bio-industries.
- De Brito, E.S., García, N.H.P., Gallão, M.I., Cortelazzo, A.L., Fevereiro, P.S., and Braga, M.R. (2001). Structural and chemical changes in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation, drying and roasting. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 81: 281-288.

- De Taeye, C., Kankolongo Cibaka, M.L., Jerkovic, V., and Collin, S. (2014). “Degradation of (-)-Epicatechin and Procyanidin B2 in Aqueous and Lipidic Model Systems. First Evidence Of ‘chemical’ flavan-3-Ol Oligomers in Processed Cocoa.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62 (36): 9002–9016. <http://dx.doi:10.1021/jf502016z>.
- De Taeye, C., Eyamo Evina, V.J., Cullet, G., Niemenak, N., and Collin, S. (2016). “Fate of Anthocyanins through Cocoa Fermentation. Emergence of New Polyphenolic Dimers.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64 (46): 8876–85. <http://dx.doi:10.1021/acs.jafc.6b03892>
- De Taeye, C., Cullet, G., Eyamo Evina, V.J., and Collin, S. (2017). Procyanidin A2 and Its Degradation Products in Raw, Fermented, and Roasted Cocoa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65 (8):1715–1723.
- Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo A.A., Capasso, F. (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Reviews in Life Sciences*, 65: 337-53.
- Dimick, P.S., and Hoskin, J.C. (1999). The Chemistry of Flavour Development in Chocolate. In *Industrial Chocolate manufacture and use*. 3rd edition S. T. Beckett., Blackwell Science, Oxford. pp. 137–152.
- Djocgoue, P.F., Boudjeko, T., Nankeu, D.J., Efombagn, M.I.B., Nyasse, S. and Omokolo, D.N. (2006). Comparative assessment of the resistance of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) progenies from SNK10 x SNK413; ICS84 x ICS95 to *Phytophthora megakarya* in Cameroon by measuring size of necrotic lesion along the midrib. *Plant Pathology Journal*, 5(3): 329-333
- Donovan, J. (2006). Diversification in international cacao markets: opportunities and challenges for smallholder cacao enterprises in Central America. Consultancy report prepared for RUTA. CATIE, Turrialba, Costa Rica, URL <http://ibcperu.org/doc/isis/9770>
- Dzialo, M.C., Park, R., Steensels, J., Lievens, B., and Verstrepen, K.J. (2017). Physiology, ecology, and industrial applications of aroma formation in yeast. *FEMS Microbiology Review*, 41: S95–S128
- Elwers, S., Zambrano, A., Rohsius, C., and Lieberei, R. (2009). Differences between the content of phenolic compounds in Criollo, Forastero and Trinitario cocoa seed (*Theobroma cacao* L.). *European Food Research and Technology*, 229(6):937-948. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-009-1132-y>
- Eskes, A.B., Beek, M.A., Toxopeus, H. (1977). Variations and correlations of some pod and bean values in cacao (*Theobroma cacao* L.) with reference to the parental effect on fruit setting and bean number. *Turrialba*, 27 (2), 193–198.

- Eskes, A., and Lanaud C. (2001). In: Tropical plant breeding. Charrier André (ed.), Jacquot Michel (ed.), Hamon Serge (ed.), Nicolas Dominique (ed.). Montpellier : CIRAD, 78-105. (Repères) ISBN 2-87614-426-3
- Eskes, A., and Lanaud C. (1997). Le cacaoyer. *In* : CIRAD. (ed): L'amélioration des plantes tropicales, Montpellier, France : 116-125.
- Eskes, A.B., Ahnert, D., Garcia, L.C., Seguíne, E., Assemat, S., Guarda, D. and Garcia P.R. (2012). Evidence on the effect of the cocoa pulp flavour environment during fermentation on the flavour profile of chocolates. http://agritrop.cirad.fr/568108/1/document_568108.pdf .
- Eyamo Evina, V.J., De Taeye, C., Niemenak, N., Youmbi E., and Collin, S. (2016). Influence of acetic and lactic acids on cocoa flavan-3-ol degradation through fermentation-like incubations. *LWT - Food Science and Technology*, 68: 514–522.
- Fang, W., Meinhardt, L., Mischke, S., Bellato, C.M., Motilal, L. and Zhang, D. (2014). Accurate determination of genetic identity for a single cacao bean, using molecular markers with a nanofluidic system, ensures cocoa authentication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62:481–487.
- Franco, R., Oñatibia-Astibia, A., and Martínez-Pinilla E. (2013). Health Benefits of Methylxanthines in Cacao and Chocolate. *Nutrients*, 5, 4159-4173. <http://doi:10.3390/nu5104159>
- Ferrazzano, G.F., Amato, I., Ingenito, A., de Natale, A., and Pollio, A. (2009). Anticariogenic effects of polyphenols from plant stimulant beverages (cocoa, coffee, tea). *Fitoterapia* 80:255–62.
- Ferreira, I. and Guido, L. (2018). Impact of wort amino acids on beer flavour: a review. *Fermentation* 4(2):23-29
- Field, D.T., Williams, C.M., and Butler, L.T. (2011). Consumption of cocoa flavanols results in an acute improvement in visual and cognitive functions. *Physiology and Behavior*. 103(4): 255-260.
- Frauendorfer, F., and Schieberle, P. (2006). Identification of the key aroma compounds in cocoa powder based on molecular sensory correlations. *Journal and Agricultural and Food Chemistry*, 54:5521–5529.
- Ganeswari, I., Khairul Bariah, S., Amizi, M. A., & Sim, K. Y. (2015). Effects of different fermentation approaches on the microbiological and physicochemical changes during cocoa bean fermentation. *International Food Research Journal*, 22(1), 70–76

- Garcia-Ochoa, F., Gomez, E., Santos, V. E., and Merchuk, J. C. (2010). Oxygen uptake rate in microbial processes: An overview. *Biochemical Engineering Journal*, 49 (3):289–307. <http://doi:10.1016/j.bej.2010.01.011>
- Ge, Y., Li, K., Xie C., Xu, Y., Shi, C., Hang, F., and Doherty, O.S.W. (2021). Formation of Volatile and Aroma Compounds during the Dehydration of Membrane-Clarified Sugar-cane Juice to Non-Centrifugal Sugar. *Foods*, 10, 1561. <https://doi.org/10.3390/foods10071561>
- Giacometti, J., Jolic, S.M., and Josic, D. (2015). Cocoa processing and impact on composition. In: Preedy VR editor. *Processing and impact on active components in food*. London/Waltham/San Diego: Academic Press. p 605–612
- Gilet, F. (2006). *Le cacao : des Olmèques au XXIème siècle*. Thèse présentée et soutenue le 19 octobre 2006 à la Faculté de Pharmacie de l'Université de Nantes, France. p.120
- Gourieva, K.B., and Tserrevitinov, O.B. (1979). Method of evaluating the degree of fermentation of cocoa beans. *USSR Patent no.646254*.
- Guehi, T.S., Dabonne, S., Ban-Koffi, L., Kedjebo, D.K., and Zahouli, G.I.B. (2010a). Effect of turning beans and fermentation method on the acidity and physical quality of raw cocoa beans. *Advanced Journal of Food Science and Technology*, 2(3) :163–171.
- Guehi, T.S., Dadie, A.T., Koffi, K.P.B., Dabonne, S., Ban-Koffi, L., Kedjebo, K.D., Nemlin, G.J. (2010b). Performance of different fermentation methods and the effect of their duration on the quality of raw cocoa beans. *International Journal Food Science and Technology*, 45 :2508–2514.
- Guehi-François, G. (2019). *Impact de la fermentation sur les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et immunomodulatrices du cacao*. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'Université de Montpellier Université Montpellier. p.211
- Hagerman, A.E. (2002). Acid butanol assay for proanthocyanidins. In: *Tannin Handbook*, Philadelphia, USA. Available from: <http://www.users.miamioh.edu/hagermae/>
- Hammerstone, J.F., Lazarus, S.A., Mitchell, A.E., Rucker, R., and Schmitz, H.H. (1999). Identification of procyanidins in cocoa (*Theobroma cacao*) and chocolate using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 47:490-496
- Hansen, C.E., Manez, A., Burri C., and Bousbaine, A. (2000). Comparison of enzyme activities involved in flavour precursors formation in unfermented beans of different cocoa genotypes. *Journal of Food and Agriculture*, 80:1193

- Hashim, P., Selamat, J., Muhammad, S.k.S., and Ali, A. (1998). Changes in free amino acid, peptide-N, sugar, and pyrazine concentration during cocoa fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 78, 535-542.
- Henderson, J.S., and Coll, P.E. (2007). Chemical and archeological evidence for the earliest cacao beverages. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104:18937-18940.
- Hernández-Hernández, C., Viera-Alcaide, I., Morales Sillero, A. M., Fernández-Bolaños, J., and Rodríguez-Gutiérrez, G. (2018). Bioactive compounds in Mexican genotypes of cocoa cotyledon and husk. *Food chemistry*, 240: 831-839. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.018>
- Hii, C., Law, C., and Cloke, M. (2009). Modeling using a new thin layer drying model and product quality of cocoa. *Journal of Food Engineering*, 90(2).
- Hinne, M., Semanhyi, E., Van de Walle, D., De Winne, A., Tzompa-Sosa, D.A., Scalone, G.L.L., De Meulenaer, B., Messense, K., Van Durme, J., Ohene Afoakwa, E.O., De Cooman, L., and Dewettinck, K. (2018). Assessing the influence of pod storage on sugar and free amino acid profiles and the implications on some Maillard reaction related flavor volatiles in Forastero cocoa beans. *Food Research International*, 111 607–620. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.064>
- Ho, V.T.T., Zhao, J., and Fleet, G. (2014). Yeasts are essential for cocoa bean fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 174 :72–87.
- Hurtado, C.A. (1960). Efectos de la Polinizaci´on Controlada Sobre Laproducci´on del Cacao. *8eme conference interamericaine*, Trinidad and Tobago, pp. 109–115.
- ICCO. (2019). Quaterly Bulletin of Cocoa Statistics.
- Ioannone, F., Di Mattia, C.D., De Gregorio, M., Sergi, M., Serafini, M., and Sacchetti, G. (2015). Flavanols, proanthocyanidins and antioxidant activity changes during cocoa (*Theobroma cacao* L.) roasting as affected by temperature and time of processing. *Food Chemistry*, 174 :256–62. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.019>
- Iwaro, A.D., Bekele, F.L., Butler, D.R. (2003). Evaluation and utilization of cacao (*Theobroma cacao* L.) germplasm at the International Cocoa Genebank. *Euphytica*, 130, 207–221.
- Jalil, A.M.M., Ismail, A., Pei Pei, C., Hamid, M., Kamaruddin, S.H.S. (2008). Effects of Cocoa Extract on Glucometabolism, Oxidative Stress, and Antioxidant Enzymes in Obese-Diabetic (Ob-db) Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 7877–7884. <https://doi.org/10.1021/jf8015915>
- Ji, K., Zhang, D., Motilal, L.A., Boccara, M., Lachenaud, P., and Meinhardt, L.W. (2013). “Genetic Diversity and Parentage in Farmer Varieties of Cacao (*Theobroma Cacao* L.)

- from Honduras and Nicaragua as Revealed by Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Markers.” *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60 (2): 441–453. <https://doi:10.1007/s10722-012-9847-1>
- Jinap, S., Wan Rosli, W.I., Russly, A.R., and Nordin, L.M. (1998). Effect of roasting time and temperature on volatile component profiles during nib roasting of cocoa beans (*Theobroma cacao*). *Journal of Science Food Agriculture*, 77:441–448.
- Jolic, S.M., Radojic Redovnikovic, I., Markovic, K., Sipusic, D.I., and Delonga, K. (2011). Changes of phenolic compounds and antioxidant capacity in cocoa bean processing. *International Journal of Food Technology*, 46:1793–800.
- John, W. A., Böttcher, N. L., Aßkamp, M., Bergounhou, A., Kumari, N., Ho, P.-W., ...Ullrich, M. S. (2018). Forcing fermentation: Profiling proteins, peptides, and polyphenols in lab-scale cocoa bean fermentation. *Food Chemistry*, 278, 786–794. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.108> .
- Jourdain, C., Tenca, G., Deguercy, A., et al. (2006). In-vitro effects of polyphenols from cocoa and beta-sitosterol on the growth of human prostate cancer and normal cells. *European Journal of Cancer Prevention*, 15(4): 353-61.
- Kadow, D., Bohlman, J., Phillips, W., and Lieberei, R. (2013). Identification of main fine or flavour components in two genotypes of the cocoa tree (*Theobroma cacao* L.). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 86:90–8. <https://doi:10.5073/JABFO.2013.086.013>
- Kadow, D., Niemenak, N., Rohn, S., and Lieberei, R. (2015). Fermentation-like incubation of cocoa seeds (*Theobroma cacao* L.)-Reconstruction and guidance of the fermentation process. *LWT-Food Science and Technology*, 62 (5) 357-361
- Katalinić, V., Milos, M., Modin, D., Musi, I., and Boban, M. (2003). Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with catechin. *Food Chemistry*, 86:593-600.
- Kealey, K. S., Snyder, R. M., Romanczyk, L. J., Geyer, H. M., Myers, M. E., Withcare, E. J., Hammerstone, J. F. and Schmitz, H. H. (1998). Cocoa components, edible products having enhanced polyphenol content, methods of the making same and medical uses. In: *Patent Cooperation Treaty (PCT)*, 1-45.
- Keeney, P.G. (1972). Various interactions in chocolate flavor. *Journal of American Oil Chemist Society*, 49(10): 567-572.
- Kenny, T.P., Keen, C.L., Schmitz, H.H., and Gershwin, M.E. (2007). Immune effects of cocoa procyanidin oligomers on peripheral blood mononuclear cells. *Experimental Biology and Medecibnes*, (Maywood) 232(2): 293-300.

- Khan, N., Nicod, N.M. (2012). Biomarkers of cocoa consumption. In: Paoletti R, Poli A, Conti A, Visioli F, editors. *Chocolate and health*. Milan/Dordrecht/Heidelberg/London/New York: Springer-Verlag. p 33–41.
- Kirchhoff, P.M., Biehl, B., and Crone, G. (1989). Peculiarity of the accumulation of free amino acids during cocoa fermentation. *Food Chemistry*, 31:295-311.
- Knight, R., and Rogers, H.H. (1955). Incompatibility in *Theobroma cacao*. *Heredity*, 9:69-77.
- Koné, M. K., Guéhi, S. T., Durand, N., Ban-Koffi, L., Berthiot, L., Tachon, A. F., and Montet, D. (2016). Contribution of predominant yeasts to the occurrence of aroma compounds during cocoa bean fermentation. *Food Research International*, 89, 910–917. <http://doi:10.1111/ijfs.14890>
- Kongor, J.E., Hinneh, M., de Walle, D.V., Afoakwa, E.O., Boeckx, P., and Dewettinck, K. (2016). Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile. A review. *Food Research International*, 82:44–52.
- Kothe, L., Zimmermann, B.F., and Galensa, R. (2013). Temperature influences epimerization and composition of flavanol monomers, dimers, and trimers during cocoa bean roasting. *Food Chemistry*, 141:3656–63.
- Krahmer, A., Engel A., Kadow, D., Ali N., Umaharan, P., Kroh, L.W., and Schulz, H. (2015). Fast and neat-determination of biochemical quality parameters in cocoa using near-infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 181:152–9.
- Krysiak, W. (2006). Influence of roasting conditions on coloration of roasted cocoa beans. *Journal Food Engineering*, 77:449–453
- Lachenaud, P. (1991). Facteurs de la fructification chez le cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) : influence sur le nombre de graines par fruit. Thèse de Doctorat Institut National Agronomique (Paris), 188 p
- Lagunes Gálvez, S., Loiseau, G., Paredes, J.L., Barel, M., and Guiraud, J.P. (2007). Study on the microflora and biochemistry of cocoa fermentation in the Dominican Republic. *International Journal of Food Microbiology*, 114(1), 124-130. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.041.PMid:1718788>
- Lanaud, C., Hamon, P., and Duperray, C. (1992). Estimation de la quantité d'ADN nucléaire chez le *Theobroma cacao* L. par cytofluorométrie en flux. *Café, Cacao, Thé*, 36 (1) : 3-8
- Landolfi R., Mower R.L. and Steiner, M. (1984). Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. Structure-activity relation. *Biochemistry and pharmacology*, 33: 1525-1530.

- Li, Y., Feng, Y., Zhu, S., Luo, C., Ma, J., and Zhong, F. (2012). The effect of alkalization on the bioactive and flavor-related components in commercial cocoa powder. *Journal of Food Composition and Analysis*, 25:17–23.
- Lima, L.J.R., and Nout R.J. (2013). Quality and safety of cocoa beans. In: Schwan, R. F. and Fleet, G. H. (eds.), *Cocoa and Coffee Fermentation*. CRC, Taylor & Francis, Boca Raton, USA.
- Liu, J., Liu, M., He, C., Song, H., Guo, J., Wang, Y., Yang, H., & Su, X. (2015). A comparative study of aroma-active compounds between dark and milk chocolate: relationship to sensory perception. *Journal of Science of Food Agriculture*, 95, 1362-1372. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6831>
- Lopez, A.S., Lehrian, D.W., and Lehrian, L.V. (1978). Optimum temperature and pH of invertase of the seeds of *Theobroma cacao* L. *Review in Theobroma*, 8:105–112.
- Loor Solórzano, G. R. (2007). Contribution à l'étude de la domestication de la variété de cacaoyer Nacional d'Équateur : recherche de la variété native et de ses ancêtres sauvages. Thèse Pour l'obtention du grade de Docteur en Sciences Agronomiques. Présentée et soutenue publiquement Le 27 novembre 2007.
- Lotito, S. B., Frei, B. (2006). Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: Cause, consequence, or epiphenomenon? *Free Radical Biology and Medicine*, 41, 1727-1746.
- Magagna, F., Guglielmetti, A., Liberto, E., Reichenbach, S. E., Allegrucci, E., Gobino, G., ... Cordero, C. (2017). Comprehensive chemical fingerprinting of high-quality cocoa at early stages of processing: Effectiveness of combined untargeted and targeted approaches for classification and discrimination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(30), 6329–6341.
- Makimura M., Hirasawa, M., Kobayashi, K., Indo, J., Sakanaka, S., Taguchi T., and Otake S. (1993). Inhibitory effect of tea catechins on collagenase activity. *Journal of Periodontology*, 64:630-636.
- Manga, N.J., Ondobo, M.L., Effa, O.P., Djoko, K.J.C., and Djocgoue, P.F. (2018). Heterosis, heterobeltitiosis, narrow-sense and broad-sense in two populations of *Theobroma cacao* L. *African Journal of Biotechnology*, 7(14):495-504.
- Marita, J.M., Nienhuis, J., Pires, J.L. and Aitken, W.M. (2001). Analysis of genetic diversity in *Theobroma cacao* with emphasis on Witches' broom disease resistance. *Crop Science*, (41):1305-1316.

- Melnik, B. (2009). Milk consumption: aggravating factor of acne and promoter of chronic diseases of Western societies. *Journal Dtsch Dermatology Ges.* 7(4): 364-370.
- Melnyk, J.P., and Marcone, M.F. (2011). Aphrodisiacs from plant and animal sources - A review of current scientific literature. *Food Research International*, 44: 840-850.
- Misnawi, J.S., Jamilah, B., and Nazamid, S. (2004). Sensory properties of cocoa liquor as affected by polyphenol concentration and duration of roasting. *Food Quality Preferences*, 15(5):403–9.
- Misnawi, J.S., Jamilah, B., and Nazamid, S. (2005). Changes in polyphenol ability to produce astringency during roasting of cocoa liquor. *Journal Science Food and Agriculture*, 85:917–24.
- Mohammedi, Z. (2013). Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région Nord et Sud-Ouest de l’Algérie. Thèse de doctorat en biologie option substances naturelles, activités biologiques et synthèses. Faculté des Sciences, Université Abou Bekr Belkaid, Algérie.
- Moreira, I., Costa, J., Vilela, L., Lima, N., Santos C., and Schwan, R. (2021). Influence of *S. cerevisiae* and *P. kluyveri* as starters on chocolate flavour. *Journal of Science of Food and Agriculture*. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11082>
- Mossu, G. (1990). *Le cacaoyer. Le technicien d’agriculture tropicale* N°14 pp: 9-109
- Motamayor, J.C., Risterucci, A.M., Lopez, P.A., Ortiz, C.F., Moreno, A., and Lanaud, C. (2002). Cacao domestication I: The origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity*, 89 (5): 380-386.
- Motamayor, J.C. (2008). Geographic and Genetic Population Differentiation of the Amazonian Chocolate Tree (*Theobroma cacao* L.). *PluS One*, 3 (10): e3311. <https://doi.org/10.1371/journal.pone0003311>
- Motilal, L. A., Zhang, D., Umaharan, P., Mischke, S., Mooleedhar, V., and Meinhardt, L. W. (2010). “The Relic Criollo Cacao in Belize – Genetic Diversity and Relationship with Trinitario and Other Cacao Clones Held in the International Cocoa Genebank, Trinidad.” *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 8 (2): 106–15. <https://doi.org/10.1017/S1479262109990232>.
- Nazarrudin, R, Seng LK, Hassan, O, Said, M. (2006). Effect of pulp preconditioning on the content of polyphenols in cocoa beans (*Theobroma cacao*) during fermentation. *Industrial Crops and Products*, 24:87–94.

- Niemenak, N., Eyamo, J.V., Effa, O.P., and Youmbi, E. (2014). Physical and chemical assessment quality of cocoa beans in south and center regions of Cameroon. *Syllabus Review Science*, (5):27 – 33.
- Niemenak, N., Evina Eyamo, J.V., Mouafi Djabou, S.A., Ngouambe Tchouatcheu, A.G., Bernhardt, C., Lieberei, R., and Bisping, B. (2021). Assessment of the profile of free amino acids and reducing sugars of cacao beans from local Cameroonian Trinitario (SNK varieties) and Forastero (TIKO varieties) using fermentation-like incubation. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 93:321 – 329. <https://doi:10.5073/JABFQ.2020.093.039>
- Niemanak, N., Rohsius, C., Elwers, S., Ndoumou, D.O., and Lieberei R. (2006). Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 612–9. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.02.006>
- Nigam, P.S., and Singh, A. (2014). Cocoa and coffee fermentations. In: Batt CA, Tortorello ML, editors. Encyclopedia of food microbiology. 2nd ed. London/Burlington/San Diego: Academic Press. p 485–92.
- Noor-Soffalina, S. S., Jinap, S., Nazamid, S., and Nazimah, S. A. H. (2009). Effect of polyphenol and pH on cocoa Maillard-related flavour precursors in a lipidic model system. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(1), 168–180. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01711.x>
- Oliviero, T., Capuano, E., Cammerer, B., and Fogliano, V. (2009). Influence of roasting on the antioxidant activity and HMF formation of a cocoa bean model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 147-152.
- Omokolo, N.D., Tsala, N.G., and Djocgoué, P.F. (1996). Changes in carbohydrates, in amino acids and phenols contents in cacao pods from three clones after infection with *P. megakarya* Bra. and Grif. *Annals of Botany*, 77: 153-158.
- Oracz J. and Nebesny E. (2014). Influence of roasting conditions on the biogenic amine content in cocoa beans of different *Theobroma cacao* cultivars. *Food Research International*, 55:1–10.
- Oracz, J., Zyzewicz, D., and Ewa Nebesny, E. (2015). The Content of Polyphenolic Compounds in Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L.), Depending on Variety, Growing Region, and Processing Operations. *Critical Review Food Science and Nutrition*, 55:1176-1192. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.686934>

- Ortega-Garcia, F., and Peragon, J. (2009). Phenylalanine Ammonia-Lyase, Polyphenol Oxidase, and Phenol Concentration in Fruits of *Olea europaea* L. cv. Picual, Verdial, Arbequina, and Frantoio during Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57:10331–10340 <https://doi:10.1021/jf901471c>
- Ortiz de Bertorelli, L., Graziani de Fariñas, L., and Gervaise, L. (2009). Influencia de varios factores sobre características del grano de cacao fermentado y secado al sol. *Agronomie Tropicale*, 59(2):119-127.
- Othman, A., Jalil, A. M. M., Weng, K. K., Ismail, A., Ghani, N. A., and Adenan, I. (2010). Epicatechin content and antioxidant capacity of cocoa beans from four different countries. *African Journal of Biotechnology*, 9, 1052-1059.
- Owusu, M. (2010). Influence of raw material and processing on aroma in chocolate. Ph.D thesis, Faculty of Life Science, University of Copenhagen.
- Owusu, M., Petersen, M.A., and Heimdal, H. (2012). Effects of fermentation method, roasting and conching conditions on the aroma volatiles of dark chocolate. *Journal of Food Processing and Preservation*, ISSN 1745-4549. <https://doi:10.1111/j.1745-4549.2011.00602.x>
- Owusu, M., Petersen, M.A., and Heimdal, H. (2013). Relationship of sensory and instrumental aroma measurements of dark chocolate as influenced by fermentation method, roasting and conching conditions. *Journal of Food Science and Technology*, 50, 909–917.
- Palanivel, H., and Shah, S. (2021). Unlocking the inherent potential of plant genetic resources: food security and climate adaptation strategy in Fiji and the Pacific. *Environment, Development and Sustainability*. <https://doi.org/10.1007/s10668-021-01273-8>
- Pate, A.K., Rogers, J.T., and Huang, X. (2008). Cognitive Impairment, and Alzheimer's Dementia. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 1: 181-191.
- Peláez, P.P., Bardón, I., and Camasca P. (2016). Methylxanthine and catechin content of fresh and fermented cocoa beans, dried cocoa beans, and cocoa liquor. *Scientia Agropecuaria*, 7 (4): 355 – 365. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.04.01>
- Pereira, G.M., da Miguel, M. G., Ramos, C.P., and Schwan, R.F. (2012). Microbiological and physicochemical characterization of small-scale cocoa fermentations and screening of yeast and bacterial strains to develop a defined starter culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(15), 5395–5405. <https://doi.org/10.1128/AEM.01481-12>
- Pereira-Caro, G., Borges, N.G., Jackson, M.C., Yokota, T., Crozier, A., and Ashihara, H. (2013). “Profiles of Phenolic Compounds and Purine Alkaloids during the Development of Seeds of *Theobroma Cacao* Cv. Trinitario.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61 (2): 427–34. <https://doi:10.1021/jf304397m>

- Perotti, P., Cordero, C., Bortolini, C., Rubiolo, P., Bicchi C., and Liberto, E. (2020). Cocoa smoky off-flavor: Chemical characterization and objective evaluation for quality control. *Food Chemistry*, 309 (2020) 125561. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125561>
- Ploetz, R. C. (2007). Cacao diseases: Important threats to chocolate production worldwide. *Phytopathology*, 97: 1634-1639.
- Portillo, E., Assemat, S., Boulanger, R., Marcano, M., Davrieux, F., Cros, E., and Labarca, M. (2009). “Aroma Formation of Criollo Cocoa (*Theobroma Cacao* L.) in Function of the Post-Harvest Treatment in Venezuela.” *Revista Científica UDO Agrícola* 9 (2): 458-468. http://journaldatabase.info/articles/aroma_formation_criollo_cocoa.html.
- Puziah, H., Jinap, S., Sharifah, K. S. M. and Asbi, A. (1998a) Changes in free amino acid, peptide-N, sugar, and pyrazine concentration during cocoa fermentation. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 78: 535–542
- Puziah, H., Jinap, S., Kharidah, M., and Asbi A. (1999). Effect of drying time, bean death and temperature on free amino acid, peptide-N, sugar, and pyrazine concentrations of Malaysian cocoa beans. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 79:987–94.
- Ramli, N., Hassan, O., Said, M., Samsudin, W., and Idris, NA. (2006). Influence of roasting conditions on volatile flavor of roasted Malaysian cocoa beans. *Journal of Food Processing and Preservation*, 30:280–98. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2006.00065.x>
- Ribereau-Gayon, O. (1968). Les composés phénoliques des végétaux, pp 202, Dunod, Paris.
- Rohsius, C. (2007). Die Heterogenität der biologischen Ressource Rohkakao (*Theobroma cacao* L.). PhD thesis, University of Hamburg, Germany.
- Rhosius, C., Matissek, R., and Lieberei, R. (2006). Free amino acids amount in raw cocoa from different origins. *European Food Research Technology*, 222: 432-438.
- Rodriguez-Campos, J., Escalona-Bundala, H. B., Orozco-Avila, I., Lugo-Cervantes, E., and Jaramillo-Flores, M. E. (2011). Dynamics of volatile and non-volatile compounds in cocoa (*Theobroma Cacao* L.) during fermentation and drying processes using principal components analysis. *Food Research International*, 44 (1):250–258. <https://doi:10.1016/j.foodres.2010.10.028>
- Rodriguez-Campos, J., Escalona-Buendia, H. B., Contreras-Ramos, S. M., Orozco-Avila, I., Jaramillo-Flores E., and Lugo-Cervantes, E. (2012). Effect of fermentation time and drying temperature on volatile compounds in cocoa. *Food Chemistry*, 132(1) 277–288.
- Rusconi, M., and Conti A. (2010). *Theobroma cacao* L., the food of the gods: a scientific approach beyond myths and claims. *Pharmacology Research*, 61:5–13.

- Sabau, X., Loor, G., Boccara, M., Fouet, O., Jeanneau, M., Argout, X., Legavre, T., Risterucci, A. M., Wincker, P., Da Silva, C., Jimenez, J. C., Cros, E., Boulanger, R., Alary, R., and Lanaud, C. (2006). Preliminary results on linalool synthase expression during seed development and fermentation of nacional and trinitario clones. *15th International Cocoa Research Conference*.
- Salomone, F., Galvano, F., and Li Volti, G. (2017). Molecular bases underlying the hepatoprotective effects of coffee. *Nutrients*, 9(1) 85. <https://doi:10.3390/nu9010085>
- Saltini, R., Akkerman, R., and Frosch, S. (2013). Optimizing chocolate production through traceability: a review of the influence of farming practices on cocoa bean quality. *Food Control*, 29:167–87. <https://doi:10.1016/j.foodcont.2012.05.054>
- Sánchez-Rangel, J. C., Benavides, J., Basilio Heredia, J., Cisneros-Zevallos, L., and Jacobo-Velázquez, D. A. (2013). The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Analytical Methods*, 5, 5990-5999.
- Santos, D.S., Rezende, R.P., dos Santos, T.F., Marques E.L.S., Ferreirad, A.C.R., Cerqueira e Silva, A.B., Romano, C.C., da Cruz Santos, D.W., Teixeira Dias, J.C., and Tavares Bisneto, J.D. (2020). Fermentation in fine cocoa type Scavina: Change in standard quality as the effect of use of starters yeast in fermentation. *Food Chemistry*, 328 (2020) 127110
- Schinella G., Mosca, S., Cienfuegos-Jovellanos, E. (2010). “Antioxidant properties of polyphenol-rich cocoa products industrially processed”. *Food Research International*, 43, 1614-1623.
- Schnermann, P., Schieberle, P. (1997). Evaluation of key odorants in milk chocolate and cocoa mass by aroma extract dilution analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 867-72.
- Singleton, V. L., and Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic Phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37, 144-158.
- Soupi, M.S. (2013). Implication des arabinogalactanes protéines dans le développement des embryons chez *Theobroma cacao*.L. Thèse de doctorat Université de Limoges,165 P
- Staniforth, V., Huang, W., Aravindaram, K., Yang, N. (2012). Ferulic acid, a phenolic phytochemical, inhibits UVB-induced matrix metalloproteases in mouse skin via post-translational mechanisms. *Journal of Nutrition and Biochemistry*, 23 :443-451.

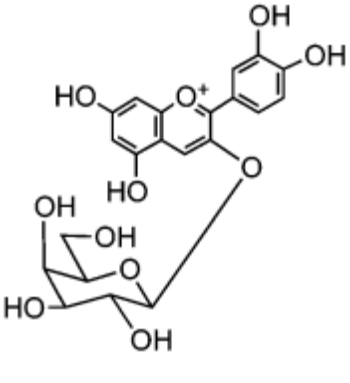
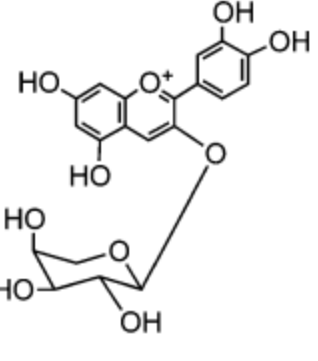
- Steinberg, F.M., Bearden, M.M., and Keen, C.L. (2003). Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health. *Journal of American Dietetic Society*, 103:215-225.
- Sukha, A.D., Umaharan, P., and Butler, D.R. (2017). The Impact of Pollen Donor on Flavor in Cocoa. *American Society for Horticultural Science*, 142 (1), 13–19. <https://doi.org/10.21273/JASHS03817-16>
- Tchouatcheu, G.A.N., Noah, A.M., Lieberei, R., and Niemenak, N. (2019). Effect of cacao bean quality grade on cacao quality evaluation by cut test and correlations with free amino acids and polyphenols profiles. *Journal of Food Science and Technology*, 56(1), 2621-2627. <https://DOI:10.1007/s13197-019-03749-y>
- Tomas-Barberan, F.A. (2012). Types, food sources, consumption, and bioavailability of dietary polyphenols nutrinsight. In: *Proceedings of the Symposium 11th Nutrition Conference, Kraft Foods*
- Tomlins, K.I., Baker, D.M., Daplyn, P., and Adomako, D. (1993). Effect of fermentation and drying practices on the chemical and physical profiles of Ghana cocoa. *Food Chemistry*, (46): 257-263.
- Trognitz, B., Cros, E., Assemat, S., Davrieux, F., Forestier-Chiron, N., Ayestas, E., Kuant, A., Scheldeman, X., and Hermann M. (2013). Diversity of cacao trees in Waslala, Nicaragua: associations between genotype spectra, product quality and yield potential. *Plos One*, 8(1):e54079.
- Tuenter E., Delbaere C., De Winne A., Bijttebier S., Custers D., Foubert K., Van Durme J., Messens K., Dewettinck K., and Pieters L. (2020). Non-volatile and volatile composition of West African bulk and Ecuadorian fine-flavor cocoa liquor and chocolate. *Food Research International*, 130 (2020) 108943. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108943>
- Tzounis, X., Rodriguez-Mateos, A., Vulevic, J., et al. (2011). Prebiotic evaluation of cocoa-derived flavanols in healthy humans by using a randomized, controlled, double-blind, crossover intervention study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 93(1): 62-72.
- Utrilla-Vázquez, M., Rodríguez-Campos, J., Avendaño-Arazate, C.H., Gschaedler, A., and Lugo-Cervantes, E. (2020). Analysis of volatile compounds of five varieties of Maya cocoa during fermentation and drying processes by Venn diagram and PCA. *Food Research International*, 129 (2020) 108834. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108834>
- Van Kammen, A., and Broumer D. (1964). Increase of polyphenoloxidase activity by a local virus infection in un-inoculated parts of leaves. *Virulogy*, 22: 9-14.

- Vasquez-Ovando, A., Molina-Freaner, F., Nunez-Farfan, J., Ovando-Medina, I., and Salvador-Figueroa, M. (2014). "Genetic Identification of *Theobroma Cacao* L. Trees with High Criollo Ancestry in Soconusco, Chiapas, Mexico." *Genetics and Molecular Research*, 13 (4): 10404–14. <https://doi:10.4238/2014>
- Vincent, J. C. (1970). Influence de différents traitements technologiques sur la fermentation du cacao et le goût du chocolat. *Café Cacao The*, 14, 303–322. Paris.
- Voigt, J., Biehl, B., and Kamaruddin, S. (1993). The major seed proteins of *Theobroma cacao* L. *Food Chemistry*, 47:145–51.
- Voigt, J., Heinrichs, H., Voigt, G., and Biehl B. (1994). Cocoa-specific aroma precursors are generated by proteolytic digestion of the vicilin-like globulin of cocoa seeds. *Food Chemistry*, 50:177–84.
- Whitkus, R., De la Cruz, M., Mota-Bravo, L., and Gomez-Pompa, A. (1998). "Genetic Diversity and Relationships of Cacao (*Theobroma Cacao* L.) in Southern Mexico." *Theoretical and Applied Genetics*, 96 (5): 621–27. <https://doi:10.1007/s001220050780>
- Whitlock, B.A., Bayer, C., and Baum, D.A. (2001). Phylogenetic relationships and floral evolution of the Byttnerioideae ("Sterculiaceae" or Malvaceae s.l.) based on sequences of the chloroplast gene, *ndhF*. *Systematical Botany*, 26 (2): 420-437
- Wielgos, A.C., Clough, Y., Fiala, B., Rumede, A., Tschardtke, T. (2012). A minor pest reduces yield losses by a major pest: plant-mediated herbivore interactions in Indonesian cocoa. *Journal of Applied Ecology*, 49, 465-473. <https://doi:10.1111/j.13652664.2012.02122.x>
- Wollgast, J., and Anklam E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33 (6), 423–447. [https://doi:10.1016/S0963-9969\(00\)00068-5](https://doi:10.1016/S0963-9969(00)00068-5)
- Wood, G.A.R., and Lass, R.A. (2001). *In: Cacao*, Blackwell 4th ed., Blackwell. Oxford, United Kingdom :620 p.
- Wood, G.A.R., and Lass, R.A. (1985). *Cacao. Logmar. scient.techn.*, England: 620 p.
- Yang, G., Jiang, J., and Lu, W. (2015). Ferulic acid exerts antiangiogenic and antitumoral activity by targeting fibroblast growth factor receptor 1-mediated angiogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 16:24011-24031.
- Yasuda, A., Takano, H., Osakabe, N., et al. (2008). Cacao liquor proanthocyanidins inhibit lung injury induced by diesel exhaust particles. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 21(2): 279-88.

- Zahouli, B., Guehi, S. T., Irie, G., Fae, A. M., Ban-Koffi, L., and Nemlin, J. G. (2010). Effect of drying methods on the chemical quality traits of cocoa raw material. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 2 (4):184–90.
- Ziegleder, G. (2009). Flavour development in cocoa and chocolate. In: Beckett ST, editor. *Industrial chocolate manufacture and use*. 4th ed. Oxford: Blackwell Publishing. p 169–91.
- Ziegleder, G. (1990) Linalool contents as characteristic of some flavor grade cocoas. Linaloolgehalt als Merkmal einiger Edelkakaos. *Lebensm Unters Forsch*, 191(4–5):306–309

ANNEXES

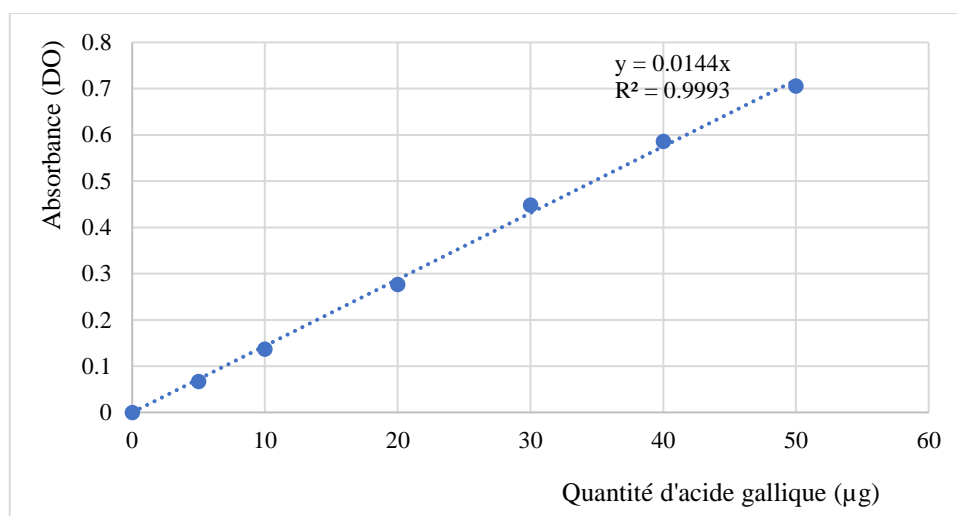
Annexe 1 : structures des principales anthocyanes du cacao

	
<p>Cyanidine-3-O-galactoside Formule : $C_{20}H_{19}O_{10}^+$ Poids moléculaire : 419 g/mol $[M]^+ = 419$ Fragments : 287</p>	<p>Cyanidine-3-O-arabinoside Formule : $C_{20}H_{19}O_{10}^+$ Poids moléculaire : 419 g/mol $[M]^+ = 419$ Fragments : 287</p>
Adapté de Pereira-Caro <i>et al.</i> , 2013.	

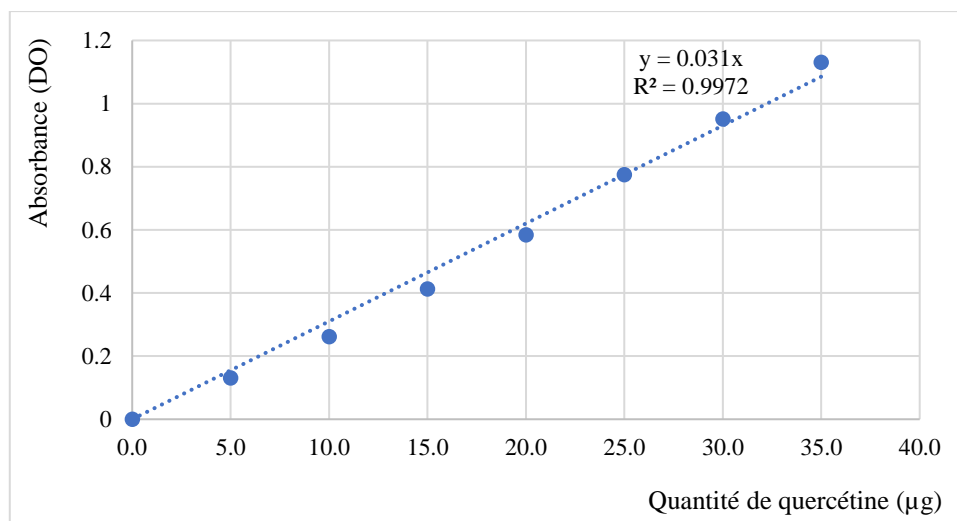
Annexe 2 : caractéristiques des deux zones d'étude.

	Mengang	Nkoemvone
Coordonnées géographiques	3°53'LN, 12°03'LE	2°49'LN 11°8'LE
Pluviométrie annuelle	1500 – 2000 mm	
Température moyenne	25±4 °C	
Caractéristiques du sol	Ferralitique et argileux, pH 5,2 à 5,7	
Zone agro-écologique	Zone de forêt humide à pluviométrie bimodale	
Divisions administratives	Région du Centre, Département du Nyong et Mfoumou, Arrondissement de Mengang	Région du Sud, Département de la Mvilla, Arrondissement d'Ebolowa 1 ^{er} .

Annexe 3: courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage les polyphénols totaux



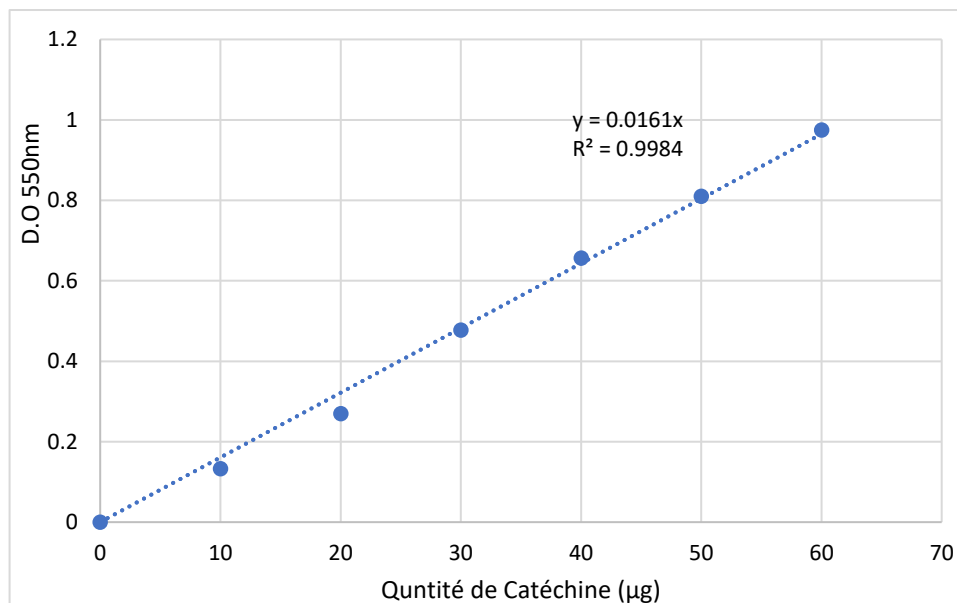
Annexe 4 : droite d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes



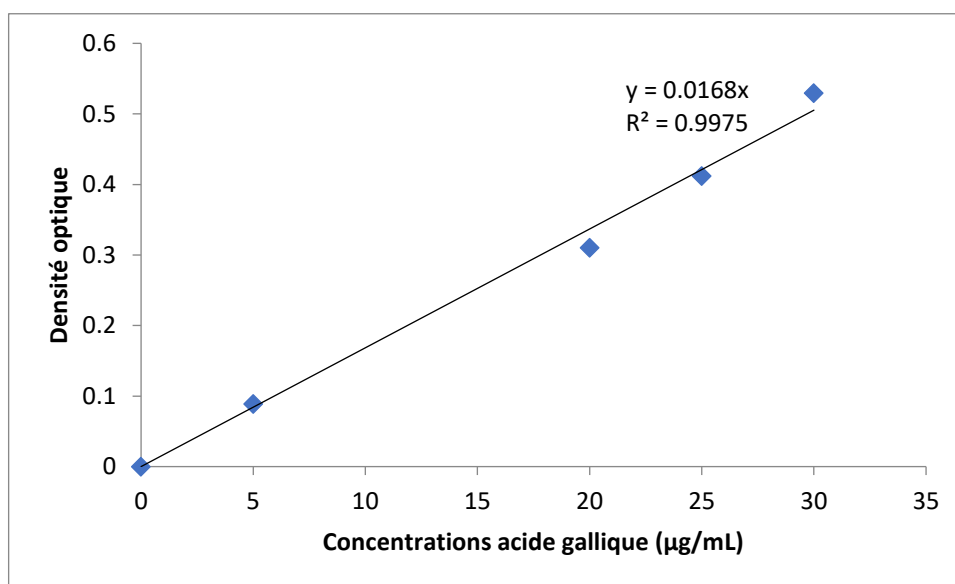
Annexe 5: droite d'étalonnage de la catéchine pour dosage des proanthocyanidines

Réactifs :

- Réactif butanol-HCl (butanol-HCl 95:5 v/v) : Mélanger 950 ml de n-butanol avec 50 ml HCl concentré (37%).
- Réactif ferrique (2 % de sulfate d'ammonium ferrique dans du HCl 2 N) : Préparer 16,6 ml de HCl concentré compléter jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillée pour obtenir du HCl 2 N. Dissoudre 2,0 g d'ammonium ferrique sulfate dans ce volume de HCl 2 N. Ce réactif doit être conservé dans une bouteille sombre.



Annexe 6: activité réductrice du fer



Annexe 7: valeurs semi-quantitatives des composés aromatiques chez les fèves torréfiées

	SCA12×ICS40	Cacao mar.	ICS40×UPA134	ICS40×SCA12	SNK16×T60/887	SNK10×IMC67
3-méthyl-1-butanol	0.527 ±0.09 b	1.281 ±0.35 a	1.210 ±0.08 a	1.468 ±0.29 a	0.320 ±0.05 b	0.446 ±0.03 b
Acétate de 3-methyl butyl	8.960 ±0.97 c	22.637 ±5.80 ab	20.208 ±2.51 b	30.308 ± 2.67 a	6.029 ±1.12 c	5.634 ±0.14 c
Pentan-2-ol	8.443 ±0.21 c	13.072 ±3.06 b	18.716 ±0.63 a	14.120 ±0.85 b	8.343 ±0.49 c	6.891 ±0.28 c
Heptan-2-ol	26.328 ±2.39 c	9.361 ±1.39 d	6.252 ±0.59d	7.332 ±0.94 d	53.047 ±3.55 a	42.773 ±0.75b
Heptan-2-one	0.426 ±0.08 cd	1.267 ±0.17a	0.646 ±0.21 bc	0.865 ±0.06 b	0.453 ±0.08 cd	0.226 ±0.01 d
2-methyl propyl acétate	0.067 ±0.02b	0.010 ±0.00d	0.030 ±0.01 cd	0.046 ±0.00 bc	0.168 ±0.02 a	0.078 ±0.01b
Nonan-2-one	5.426 ±0.32b	9.748 ±1.26 a	3.045 ±0.52 b	2.932 ±0.76 b	9.252 ±1.70 a	9.212 ± 0.42a
Ethyle acétate	7.401 ±1.53b	10.733 ±1.98 ab	13.943 ±3.41 ab	16.305 ±5.11 a	9.078 ±1.33ab	8.947 ±1.76ab
2-heptanol, acetate	19.625 ±1.74 ab	6.495 ±1.06c	2.772 ±0.28c	4.565 ± 0.59 c	21.411 ±3.33a	15.757 ±0.32 b
2,3-Butanediol	0.633 ±0.04a	0.027 ±0.01c	0.000 ±0.00c	0.246 ±0.06b	0.035 ±0.01c	0.000 ± 0.00c

Ethyl benzeneacétate	0.794 ±0.22 b	0.629 ±0.13 bc	1.271 ±0.30 a	0.497 ±0.11 bc	0.246 ±0.04 c	0.239 ±0.03 c
Furanéol	0.010 ±0.00 b	0.011 ±0.00 b	0.000 ±0.00 c	0.000 ±0.00 c	0.000 ±0.00 c	0.044 ±0.01 a
Total arôme fruité	78.64±8.929 bc	75.271±7.102 bc	68.093±7.545 c	78.684±9.314 bc	108.382±15.278 a	90.247±12.223 b
Phénéthyl acétate	5.389 ±1.39 bc	6.297 ±0.20 abc	11.086 ±2.66 a	10.171 ±3.51 ab	1.555 ±0.32 c	1.724±0.23 c
2-phenyl éthanal	3.104 ±0.26 ab	4.553 ±1.56 a	2.920 ±0.80 ab	4.352 ±1.51a	1.410 ±0.29 b	1.572±0.17 b
2-phényléthanol	9.132 ±1.78 bc	15.990 ±2.86 ab	20.832 ±3.09 a	20.324 ±6.68 a	3.660 ±1.21 c	4.448 ±0.43 c
Acétophénone	7.399 ±0.44 b	15.310 ±2.48 a	4.973 ±1.08 b	6.713 ±1.67 b	8.873 ±2.56 b	7.404 ±0.52 b
Cis-Linalool oxide (furanoid)	1.698 ±0.17a	1.258 ±0.16 ab	1.172 ±0.13b	1.656 ±0.31 a	0.603 ±0.12 c	0.444 ±0.01c
Trans-bêta-ocimène	18.402 ±1.27 a	0.674 ±0.13 b	0.066 ±0.02 b	0.296 ±0.06 b	0.145 ±0.03 b	0.516 ±0.03 b
β-Myrcène	20.179 ±2.49 a	1.501 ±0.29b	0.676 ±0.08 b	0.721 ±0.15b	0.247 ±0.05b	0.858 ±0.04 b
o-Xylene	0.020 ±0.00b	9.601 ±3.03a	0.045 ±0.01b	0.000 ±0.00b	0.001 ±0.00b	0.000 ±0.00 b
Linalol	3.810 ±0.74 a	0.616 ±0.11 b	0.485 ±0.11 b	0.463 ±0.10 b	0.383 ±0.09 b	0.601 ±0.01 b
Octan-1-ol	0.151 ±0.02 a	0.000±0.00 b	0.000 ±0.00 b	0.000 ±0.00 b	0.000±0.00 b	0.000 ±0.00 b
Phénylméthyl acétate	0.020 ±0.00 a	0.017 ±0.00 a	0.010 ±0.00 b	0.000 ±0.00 c	0.008 ±0.00 b	0.000 ±0.00 c
Méthyl benzenacétate	10.338 ±0.86 a	7.700 ±1.58 ab	4.294 ±1.00 cd	6.963 ±1.96 bc	1.462 ±0.58 d	2.219 ±0.17 d
Total arôme floral	79.642±6.864 a	63.517±5.802 b	46.559± 6.252 c	51.659±6.106 c	18.347±2.244 d	19.786±2.213 d
2-méthyl-butanal	3.552 ±0.38 bcd	6.559 ±1.03a	3.438 ±0.47 cd	3.840 ±0.15 bc	2.087 ±0.34 d	4.939 ±0.42b
3-méthyl-butanal	3.348 ±0.14 a	3.357 ±0.39 a	1.589 ±0.12 bc	2.126 ±0.29 b	1.016 ±0.22 c	1.848 ±0.07 b
Benzaldéhyde	41.197 ±2.68 b	74.862 ±9.31 a	20.715 ±3.33 c	43.765 ±13.18 b	6.970 ±2.07 c	12.144 ±0.30 c
2,6-diméthylpyrazine	0.908 ±0.03 bc	0.252 ±0.02 cd	0.155 ±0.03 d	0.062 ±0.01 d	1.170 ±0.056 b	2.730 ±0.26 a
2,3-diméthyl-pyrazine	5.400 ±0.59 b	9.204 ±1.02 a	2.434 ±0.15 c	1.318 ±0.16 c	1.098 ±0.31 c	1.703 ±0.14 c
2,3-Diméthyl-5-éthylpyrazine	0.163 ±0.04 b	0.053 ±0.022 c	0.024 ±0.00 c	0.041 ±0.00 c	0.180 ±0.05 b	0.391 ±0.02 a
3,5-Diméthyl-2-éthylpyrazine	0.144 ±0.01 b	0.053 ±0.02c	0.024 ±0.00 c	0.041 ±0.00 c	0.180 ±0.05 b	0.391 ±0.02 a
2,3,5-Triméthyl-6-éthylpyrazine	1.378 ±0.11 a	0.800 ±0.07 b	0.612 ±0.10 b	0.067 ±0.01 d	0.372 ±0.09 c	0.204 ±0.06 cd
2,3,5-Triméthylpyrazine	28.395 ±2.39 a	34.578 ±4.03 a	15.271 ±2.49 bc	8.285 ±1.68 c	16.059 ±3.86 b	11.009 ±0.33 bc
2,3,5,6-Tétraméthylpyrazine	205.804 ±13.41 a	154.226 ±13.25 b	104.285 ±17.06 c	18.202 ±5.09 d	46.164 ±11.02 d	23.015 ±0.53 d
2-acétopyrrole	6.187 ±0.43a	4.009 ±0.84 b	3.919 ±0.47 b	4.457 ±1.16 ab	3.911 ±1.13 b	3.678 ±0.12 b
2-Formylpyrrole	0.288 ±0.04 ab	0.374 ±0.06 a	0.190 ±0.04 bcd	0.168 ±0.04 cd	0.244 ±0.04 bc	0.095 ±0.01 d
Total arôme choco-lat/noisette	296.764±58.475 a	288.327±46.528 a	152.656±29.590 b	82.372±12.759 c	79.451±13.263 c	62.147±6.931 c
2,3-Butanedione	13.899 ±0.26 ab	9.681 ±1.00 c	15.060 ±1.63 ab	14.077 ±2.02 ab	16.853 ±0.85 a	12.072 ±1.08 bc
Butyrolactone	1.855 ±0.18 b	4.579 ±0.38 a	3.800 ±0.53 a	2.240 ±0.36 b	1.406 ±0.31 b	1.405 ±0.07b
3-hydroxybutan-2-one (Acétoïne)	21.177 ±0.72 b	20.873 ±1.12 bc	31.599 ±6.06 a	28.584 ±0.73 a	13.573 ±1.95 cd	6.696 ±0.48 d
Total arôme crème/beurre	36.931±9.758 c	35.133±8.334 c	50.459±13.982 a	44.901±13.194 b	31.832±8.138 c	20.173±5.333 d
Acétaldéhyde	0.625 ±0.04 a	0.374 ±0.08 b	0.445 ±0.09b	0.384 ±0.04b	0.208 ±0.05c	0.131 ±0.02c
Diméthyl sulfide	0.043 ±0.01b	0.079 ±0.01b	0.065 ±0.02b	0.060 ±0.02b	0.205 ±0.04a	0.036 ±0.01b
2-méthyl-propanal	1.031 ±0.21 ab	1.317 ±0.17a	0.739 ±0.19 bc	0.845 ±0.11 bc	0.539 ±0.14c	1.042 ±0.13ab
2-ethyl-5-méthyl-furan	0.908 ±0.06a	0.034 ±0.01d	0.349 ±0.02c	0.364 ±0.02c	1.037 ±0.10a	0.550 ±0.05 b
2-ethylhexyl tert-butyl Ether	0.205 ±0.01 bc	0.319 ±0.09 a	0.304 ±0.01 ab	0.199 ±0.01 bc	0.124 ±0.03 c	0.183 ±0.03 c
Ethyl-3-méthylbutanoate	0.194 ±0.07a	0.278 ±0.01a	0.288 ±0.09a	0.164 ±0.05a	0.147 ±0.02a	0.244 ±0.02a
Butyl acétate	11.930 ±1.92 b	22.834 ±7.74 a	11.354 ±1.36 b	12.046 ±1.44 b	4.580 ±1.61 b	5.860 ±1.03b
1-méthylbutyle acétate	5.700 ±0.38 c	8.440 ±1.71b	10.729 ±0.44 a	9.588 ±0.67 ab	5.188 ±0.15 c	3.598 ±0.22 c
D-Limonène	0.000 ±0.00 c	0.017 ±0.01b	0.000 ±0.00c	0.000 ±0.00c	0.050 ±0.00 a	0.052 ±0.01a
Terpinolène	0.000 ±0.00b	0.000 ±0.00b	0.000 ±0.00 b	0.000 ±0.00b	0.000 ±0.00b	0.003 ±0.00a
Méthyl lactate	0.000 ±0.00 c	0.020 ±0.01 b	0.089 ±0.01 a	0.016 ±0.01 bc	0.033 ±0.01 b	0.000 ±0.00 c

Méthyl acétate	180.642 ±50.45bc	141.703 ±43.15c	323.267 ±56.31a	316.250 ±83.85ab	86.174 ±5.61c	84.927 ±28.38c
3-Ethoxypropyl acétate	0.337±0.11 a	0.075± 0.01 bc	0.384±0.11 a	0.253 ±0.03 ab	0.000±0.00 c	0.000 ±0.00 c
2,3-Butanediol, diacétate A	3.661 ±0.39 ab	2.772 ±0.28 b	3.922 ±0.57 a	2.803± 0.65 ab	0.955± 0.21c	0.509± 0.16 c
2,3-Butanediol, diacétate B	8.542 ±0.88a	1.558 ±0.05 cd	5.246±0.63 b	2.658 ±0.52c	0.535 ±0.08 d	0.515 ±0.07d
2,3-Butanediol, [R-(R*, R*)]-	2.775 ±0.39 b	2.001 ±0.35b	1.172± 0.27b	1.146 ±0.31 b	6.310 ±1.51 a	5.237± 0.14 a
5-Méthyl furfural	0.137 ±0.03 a	0.106 ±0.03 a	0.091 ±0.02 a	0.109 ±0.04 a	0.022 ±0.01 b	0.126 ±0.02a
1,2-Propanediol, 1- acetate	3.210 ±0.63 a	0.000 ±0.00 d	0.903 ±0.07 c	2.635 ±0.34 ab	2.116 ±0.24 b	1.765 ±0.17 bc
Bicyclo[3.1.1]heptan-2- one	8.124 ±1.19 a	7.277 ±1.13 ab	8.778 ±1.09 a	5.460 ±0.48 b	1.645 ±0.31 c	0.888 ±0.12c
Total autres composés volatils	228.064±40.988 b	189.204±32.367 c	368.125±73.687 a	354.984±72.140 a	109.868±19.562 d	105.666±19.301 d
Éthanol	1.774 ±0.36c	3.052 ±0.53 bc	4.092 ±0.66b	4.703 ±1.26 ab	3.675 ±0.28bc	6.335 ±0.93a
Alcool benzylique	0.700 ±0.08 a	0.054 ±0.02 c	0.407 ±0.07 b	0.669 ±0.18 a	0.158± 0.05 c	0.286 ±0.01 bc
Acide 3- methylbutanoïque	47.295 ± 13.26 a	23.376 ±7.28 a	27.868 ±7.25 a	44.609 ± 15.39 a	36.416 ±6.93 a	35.130 ±0.84 a
2-methoxy-Phenol	0.621 ±0.13a	0.012±0.00 c	0.171 ±0.02 bc	0.226 ±0.07 b	0.258 ±0.05 b	0.145 ±0.01 bc
Acide acétique	673.879 ± 59.77 ab	796.504 ± 64.73 a	577.098 ± 73.21 bc	673.000 ± 75.91 ab	487.640 ±76.25 cd	377.697 ± 11.75 d
Total arômes indési- rables	724.269±73.62 3 b	822.998±72.54 3 a	609.636±81.211 c	723.207±96.899 b	528.147±83.567 d	419.593±13.542 e

ARTICLES
