



Le "goût" du cidre : Exploration des interactions entre les composés chimiques et les caractéristiques organoleptiques des cidres

Ronan Symoneaux

► **To cite this version:**

Ronan Symoneaux. Le "goût" du cidre : Exploration des interactions entre les composés chimiques et les caractéristiques organoleptiques des cidres. Ingénierie des aliments. Université d'Angers, 2015. Français. <NNT : 2015ANGE0027>. <tel-01379956>

HAL Id: tel-01379956

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01379956>

Submitted on 12 Oct 2016

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

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

Thèse de Doctorat

Ronan SYMONEAUX

*Mémoire présenté en vue de l'obtention du
grade de Docteur de l'Université d'Angers
sous le label de L'Université Nantes Angers Le Mans*

École doctorale : **ED VENAM (Végétal Environnement Nutrition Agroalimentaire Mer)**

Discipline : *Biologie des organismes*

Spécialité : *Analyse Sensorielle*

Unité de recherche : **Unité de Recherche GRAPPE, SFR 4207 QUASAV, Groupe ESA**

Soutenue le *20 avril 2015*

Thèse N° : *1 470*

Le « goût » du cidre :

**Exploration des interactions entre les
composés chimiques et les caractéristiques
organoleptiques des cidres**

JURY

Rapporteurs : **Catherine RENARD**, Directrice de Recherche, INRA
Gilles DE REVEL, Professeur, ISVV

Examineurs : **Anne SAINT-EVE**, Maître de conférences, AgroParisTech
Carole PROST, Professeur, ONIRIS Nantes
Emira MEHINAGIC, HDR, UR GRAPPE, ESA

Directeur de Thèse : **Sylvie CHOLLET**, HDR, ISA Lille

Thèse de doctorat



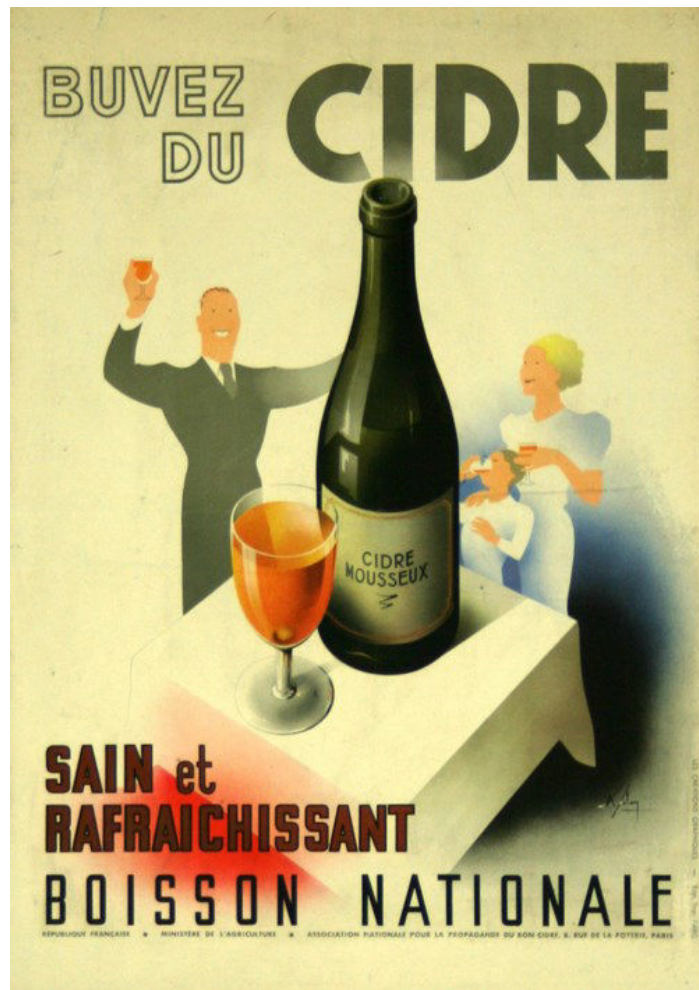
Ronan SYMONEAUX

Unité de Recherche GRAPPE, SFR 4207 QUASAV, Groupe ESA

Le « goût » du cidre :

**Exploration des interactions entre les composés
chimiques et les caractéristiques organoleptiques
des cidres**

*A Charles et Pierre, à Gilberte et Maryvonne,
A Yves et Annie
A Toi*



Avant-Propos

Cette thèse a été réalisée dans le prolongement du programme de recherche CISAVEUR, financé par les régions Pays de la Loire et Bretagne et soutenu par le Pole Agronomique Ouest. Les professionnels de la filière cidricole ont également porté ce projet par l'intermédiaire du Collectif Ouest Recherche Cidricole (COREC).

Ce travail est le fruit d'une collaboration entre l'INRA, UR1268 BIA- Polyphenols, Reactivity, Processes et l'IFPC (Institut Français des Productions Cidricoles) réunis dans l'UMT NovaCidre, le laboratoire de mathématiques appliquées d'AgroCampusOuest et l'unité de recherche GRAPPE de l'École Supérieure d'Agriculture d'Angers. Au début du projet, la société Val de Vire Bioactives était également impliquée dans la fourniture de polyphénols de qualité alimentaire.

Ce projet a débuté en 2008, avec un thésard qui a choisi de mettre fin à son contrat après quelques mois. Les financeurs ont permis de faire appel à des ingénieurs d'études (Cécile Bavay, Catherine Ouvrard, Corinne Patron) pour finaliser le projet. Aussi, à la fin officielle du programme CISAVEUR, la majorité des données étaient acquises mais sans avoir eu le temps de valoriser scientifiquement les travaux. La direction du Groupe ESA a alors accepté d'autofinancer ma thèse dans le cadre d'une stratégie de qualification interne de son personnel cohérent avec mes motivations personnelles.

C'est dans ce contexte que j'ai soumis cinq publications scientifiques dont quatre sont acceptées à ce jour et qui constituent par conséquent le cœur de ce manuscrit.

Publications

- Symoneaux, R., Baron, A., Marnet, N., Bauduin, R., & Chollet, S. (2014). Impact of apple procyanidins on sensory perception in model cider (part 1): Polymerisation degree and concentration. *LWT - Food Science and Technology*, 57(1), 22-27. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.11.016>
- Symoneaux, R., Chollet, S., Bauduin, R., Le Quéré, J. M., & Baron, A. (2014). Impact of apple procyanidins on sensory perception in model cider (part 2): Degree of polymerization and interactions with the matrix components. *LWT - Food Science and Technology*, 57(1), 28-34. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.01.007>
- Symoneaux, R., Chollet, S., Patron, C., Bauduin, R., Le Quéré, J.-M., & Baron, A. (2015). Prediction of sensory characteristics of cider according to their biochemical composition: Use of a central composite design and external validation by cider professionals. *LWT - Food Science and Technology*, 61(1), 63-69. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.030>
- Guyot, S., Symoneaux, R., Le Quéré, J. M., & Bauduin, R. (2014). Les Polyphénols de la Pomme aux Cidres : diversité variétale et procédés, facteurs clé de la modulation des saveurs et des couleurs *Innovations Agronomiques*, 42, 105-123.
- Symoneaux, R. , Le Quéré, J.M., Baron, A., Bauduin, R. , Chollet, S. (2015). Impact of CO2 and its interaction with the matrix components on sensory perception in model cider . *LWT - Food Science and Technology*, (Accepté avec modifications majeures)
- Symoneaux R., Guichard H., Le Quéré J.M., Baron A., Chollet S. (2015). Could cider aroma modify cider mouthfeel properties ? *Food Quality and Preference*, (Under Review)

Présentation dans une conférence internationale

- Symoneaux, R., Baron, A., Marnet, N., Bauduin, R., & Chollet, S. (2012). *Sensory impact of polymerisation degree and concentration of procyanidins in an apple cider model solution*. International Conference on Polyphenols, Firenze, Italy.

Conférences avec des professionnels cidricoles et communication orale

- Symoneaux, R. (2011). *Impact des procyanidines sur l'amertume et l'astringence*. Journée technique « Les composés phénoliques : Intérêts organoleptiques et maîtrise au cours de l'élaboration des cidres », Le Rheu, France.
- Symoneaux, R. (2013). *Rôle des procyanidines en interaction avec la matrice sur la perception sensorielle du cidre*. Journée technique « Saveurs et Polyphénols » Rennes, France.
- Symoneaux, R., Chollet, S., Patron, C., Bauduin, R., Le Quéré, J. M., & Baron, A. (2014). *Les polyphénols de pommes au cœur de la qualité gustative des cidres*. Conférence PHI, Avignon, France.

Remerciements

Depuis ce jour d'octobre 2014, où j'ai officiellement commencé la rédaction de ce manuscrit, j'écris des noms dans cette section, puis je change la police en blanc pour que mes divers relecteurs n'en aient pas connaissance... En ce jour de février 2015, où je dois publier ce manuscrit, je peux maintenant remettre la couleur sur tous ces noms qui m'accompagnent de près ou de loin dans ce projet professionnel. Vous qui lisez ce manuscrit, vous pouvez sauter cette partie, ces quatre pages, que vous trouverez peut-être trop longue et sans lien avec la problématique de la thèse... Mais bon, c'est mon espace de liberté, aussi j'en profite... Et plusieurs d'entre vous savent combien il est important pour moi de dire « Merci Tout Simplement »... :

À ma famille, À Charles et Pierre, à Gilberte et Maryvonne, mes grands-parents pour mes racines bretonnes, normandes et italiennes... qui font ce que je suis... **À Yves et Annie**, mes parents, pour leur Amour, leur soutien indéfectible malgré mes silences, pour tout ce que vous m'avez aussi apporté et qui fait ce que je suis... et ça a commencé tôt ! Inné ou Acquis, je ne sais toujours pas... Mais dans tous les cas, je vous le dois ! Merci à Yves pour la relecture approfondie du manuscrit ! Quand je pense que « procyanidines » et « galloylation » ne sortiront jamais au Scrabble ! Dommage... **À Karen**, mon épouse, qui me supporte au quotidien, comme je suis, avec mes hauts et avec mes bas, Merci de ton Amour, de ta tendresse et de ta musique... **À Éléonore et Angélique**, mes deux trésors, merci de votre présence dans ma vie, merci pour votre énergie communicative, pour vos rires et vos sourires, merci de vous lever à l'heure le matin pour que je puisse aller travailler, merci vraiment merci d'être là... **À Jacques et Geneviève**, la tradition populaire dit qu'on hérite toujours de quelque chose de son parrain et de sa marraine, je n'ai pas de doute...

À mes proches, à mes amis, merci à vous tous qui essayez de comprendre quel est mon métier et ce qu'est une thèse, merci de votre amitié et de votre présence. **À Expression**, mon ensemble vocal, **à chacun d'entre vous, et particulièrement à Isabelle**, pour tout ce que vous m'avez apporté ces dernières années, pour la respiration ventrale qui tous les jours me permet de gérer tant de situations, pour cette jouissance du chant, personne ne peut connaître l'intensité de la relation que nous avons tous ensemble et qui m'a permis d'avancer, de progresser. Ça me manque... **À Sébastien R.**, pour le bonheur que tu m'as offert d'animer avec moi, pour la musique, pour le plaisir de chanter et ton humour si pointu.

Au Groupe ESA, à l'institution qui m'emploie, **À Bruno P.**, merci de vos encouragements, merci d'avoir accepté que j'entre dans cette démarche de thèse, j'ai beaucoup apprécié nos confrontations quand j'étais dans les instances de représentations du personnel, cela m'a beaucoup appris. **Au service informatique de l'ESA, à la Maintenance, à Achats-Salles, à la reprographie, et à l'accueil...** Dois-je vous citer nommément ? Ça serait trop long... Chacun d'entre vous mériterait un petit mot pour ce que vous faites, pour ce que vous êtes. Désolé, Messieurs, le doctorat ne changera rien de ma relation avec

vous, je resterai le même. Merci pour la facilitation que vous apportez dans mon métier et merci pour cette bouffée de bonne humeur que vous m'apportez le midi quand nous mangeons ensemble...

À mes collègues du labo, à chacun d'entre vous de réussir à travailler avec moi au quotidien, à ceux qui ont travaillé de près dans la réalisation des dégustations. **À Corinne P.**, merci pour la qualité de ton travail, merci de ta veille, de ta compréhension, de ton écoute ces derniers mois pour me garder sur le bon chemin, pour que j'avance, merci de ta collaboration dans ma thèse et d'accepter mon imprécision, mon bordel, mon humeur, merci d'être là pour que le labo senso fonctionne, c'est bon de pouvoir travailler en confiance. **À Isabel S.**, je connais la valeur de ton travail, ce projet n'aurait pas pu se faire sans toi, sans l'énergie déployée dans la préparation des séances, dans le rangement du labo. Merci de me supporter... et j'espère maintenant qu'on aura à nouveau l'occasion de cuisiner ensemble pour nos collègues... **À Cécile B.** (qui sera citée deux fois), pour la première manip de la thèse, pour mon initiation à R, pour tout ce que tu as apporté tout au long de ma démarche. **À Catherine O.**, pour ce que le panel est devenu entre tes mains, merci de ton investissement sans compter dans nos projets dans un contexte parfois compliqué, merci d'être restée grande. **A nos panelistes**, pour votre implication sans compter (ou presque...), merci d'avoir accepté sans rien dire mes caprices, merci de vous être laissés guider par Cécile, Catherine, Mathilde et Corinne, j'ai bien conscience que ce travail n'aurait pu voir le jour sans vous... **À Dominique LM., Véronique F. et Abel O.C.**, qui supportent sans rien dire mes entrées parfois bruyantes dans l'open-space et mon humour parfois déplacé. **À Justine et Margot, à tous nos stagiaires**, chacun(e), dans vos missions, m'apportez beaucoup, merci de m'avoir permis de finir ma thèse dans de bonnes conditions et en confiance. **A Laurence B.** qui m'aide tellement dans toutes ces missions administratives, heureusement que tu es là... **À René S.** pour notre collaboration croissante et stimulante, je suis heureux qu'on bosse plus ensemble dans le labo et dans le département, rien à voir avec ma thèse, mais j'ai aussi envie de te remercier... **À Cécile CLR**, pour le vent d'air frais que tu apportes dans l'équipe, ça fait un bien fou, garde cette belle énergie, j'adore cette stimulation, cette analyse critique, cet esprit... merci pour ce plaisir de travailler ensemble. **À Céline B.** je te dois beaucoup dans mon travail, j'aime cette complémentarité que tu m'offres, cette confiance. Je sais que tout va rouler et c'est super bon... **À Isabelle M.**, merci de ce chemin parcouru ensemble ces dernières années, merci de ta patience dans certains cas me concernant, mais aussi de la mienne dans d'autres... merci de ces échanges parfois musclés mais toujours constructifs, merci de ta franchise, merci de ton amitié. **À nos doctorants du GRAPPE**, quel paradoxe d'avoir participé de loin ou de près à vos encadrements de thèse sans être passé par là... maintenant, je comprends beaucoup de choses... **A Nicolas M.** qui est à l'origine de cette thèse sur le cidre, **à Marine LM et Lucie P.** nos premières thésardes en sensorielle qui m'ont fait entrer dans ce monde de la Recherche, **A Mathilde C.** pour la qualité de son travail sur les pommes qui m'a permis d'avoir un panel au top sur les arômes et **à Cécile B.**, pour ce que tu m'as apporté lors de la finalisation de la thèse, pour ton soutien, ta compréhension de mon univers si particulier. Merci Cécile... **A Sandra B.**, pour ton sourire qui redonne de l'énergie, pour nos prochaines promenades, j'espère, avec Intrépide... **A Mathieu M.**, mon alter ego sous R, merci de ta stimulation, j'adore ton humour...

À Emira M., avec qui j'ai commencé à cheminer au GRAPPE, il y a quelques années. Merci de ce que tu as fait du laboratoire. Merci de l'énergie que tu déploies au quotidien pour que notre équipe vive. Merci pour notre amitié sincère, pour ton éternel optimisme qui transpire jusqu'à moi... Merci de tes encouragements successifs dans tout ce que j'entreprends. Merci, vraiment merci...

À Frédérique J., qui, depuis des années, m'encourage à m'engager vers le doctorat. Merci Frédérique d'avoir cru au « Sensoriel » et d'avoir créé ce poste. J'espère que je suis à la hauteur de la confiance que tu m'as témoignée en me

choisissant dans ton équipe il y a 15 ans. Merci de m'accepter comme je suis. Merci de me laisser de te dire ce que je pense sans réserve (parfois, je devrais peut-être en avoir un peu...). Merci sincèrement.

À mes collègues scientifiques et professionnels que je côtoie et qui m'apportent tellement. **À Christophe Déraïl**, que je n'ai pas vu depuis tant d'années, mais à qui je dois, je crois, beaucoup d'avoir choisi le chemin de la Recherche, j'espère que tu seras fier de mon travail. **À Sylvie C.**, pour ton amitié, ton soutien, ta pédagogie dans la construction, la correction de nos publications. J'ai voulu que tu sois ma directrice de thèse car je savais que tes compétences m'apporteraient beaucoup. J'espère que la fin de la thèse ne correspondra pas à la fin de nos collaborations. J'espère encore profiter de votre accueil familial, c'est ma seule occasion de faire du foot ! **À Mara G.**, pour les compétences scientifiques que tu as partagées sans réserve avec moi, qui font que j'ai enfin franchi le pas. Merci pour nos échanges, pour notre collaboration sincère qui malgré la distance a perduré. Merci pour ces rires, cette liberté que tu m'autorises dans nos discussions. Merci de tout ce que tu m'as apporté. Je n'aurai appris que quelques mots d'espagnol depuis que je te connais mais au moins je peux te dire avec conviction : « Muchas Gracias Mara por Todo³ ». **À Catherine M.G.C.R., Catherine B. et Gérard C.**, vous m'avez tous les trois soutenu et guidé depuis plusieurs années (depuis Isafruit puis Tempantiox) et je vous dois beaucoup, sans que vous en ayez conscience probablement, dans ce choix de m'engager vers le doctorat. Merci de votre confiance. **À mes collègues d'ONIRIS** (Angélique, Laurent, Carole, Mostapha, Mohamed, Véronique et Evelyne), pour leur sérieux, leurs connaissances mais aussi leur bonne humeur... Plus particulièrement, **À Philippe C.** qui m'a sans doute donné le « goût » de la planification expérimentale. Je me souviendrai à vie de ton rire quand je t'ai annoncé mon plan à 72 produits et du moment au Jean-Pierre Gauchi a pris la parole à Agrostat pour me poser La seule question à poser... **À Michel S.**, qui m'a également beaucoup apporté sur les plans d'expériences. Merci à tous les deux pour votre complémentarité enrichissante. A mes collègues d'Agrocampus Ouest, notamment **François H.** pour ses réponses rapides sur SensoMineR et FactoMineR et **Jérôme P.** pour ses conseils en planification expérimentale. **À Carol R.** qui n'est jamais citée nulle part, mais qui, par ses relectures, ses corrections de mon anglais parfois approximatif (my english, not your correction !), a permis que les publications passent sans remarque linguistique. **Au PAO**, à tous les collaborateurs **Henri, Stéphan, Jean-Luc**, plus particulièrement **à Marie-Pierre C.**, pour votre aide au montage, votre suivi de CISAVEUR, merci de vos questions qui parfois surprennent ou dérangent mais nous font avancer...

À l'UMT NOVACIDRE, mais plus particulièrement à chacun d'entre vous, pour vos expertises respectives, votre investissement dans ce projet, pour le partage de votre savoir... Merci d'avoir accepté de collaborer avec moi, d'avoir relevé le défi de mes caprices d'alimentarité, merci pour votre humour lors de chacune de nos rencontres. C'est un vrai bonheur de travailler avec vous dans le sérieux et la détente à la fois. **À Alain B.**, pour ta précision, pour tous les éléments de discussions que tu m'as apportés en prenant le temps de la pédagogie, pour ton expérience dans la rédaction scientifique dont tu m'as fait profiter. **A Hugues G.**, un sensoriste en devenir... Demain, je ne travaillerai plus avec vous si tu continues comme ça... Merci de ton implication dans la publication sur les arômes. Merci de ta confiance en mes connaissances. **À Jean-Michel LMQ**, pour nos échanges sur la modélisation et sur l'amertume de l'alcool, pour tes feuilles de calculs XLS, un jour, tu seras convaincu par R... **À Pascal P.** que je n'ai pas envie d'oublier car même si nous n'avons pas collaboré dans CISAVEUR j'ai le bonheur aujourd'hui de travailler avec toi sur CICHROM. **À Nathalie M.**, toi, qui as passé tant d'heures, de jours, de semaines, pour purifier ces procyanidines, ces 1.5g par DP, récupérant mg par mg. De l'or en poudre... Je ne sais pas si nos dégustateurs ont eu conscience de la valeur de ce qu'ils ont dégusté... Ce projet n'aurait pas du tout eu la même saveur sans ta participation. **À Remi B.**, toujours de bonne humeur, (les autres aussi), tout le monde n'a pas la chance d'avoir un co-auteur comme toi, et je n'en ai aucune amertume, mais j'ai bien la fierté d'avoir collaboré avec toi. **À Séverine B. et**

Sylvain H. (et tous ceux qui ont préparé nos sauces). Vous deviez craindre chacune de nos réunions de travail dans l'attente de connaître ce que nous avons décidé comme protocole... Merci d'avoir mis tant de soin dans la préparation de nos échantillons... Et Merci spécialement à Sylvain pour cette découverte de l'amertume et de l'astringence des pommes à cidre que tu m'as imposée lors de notre première rencontre au SIVAL il y a quelques années... Qui n'a jamais croqué naïvement à pleines dents dans une Kermerrien ne peut comprendre mon attachement à Sylvain ! Et finalement à toute cette équipe... **À Sylvain G.**, hyper pointu sur le sujet, hédoniste à bien des égards... Quel plaisir de parler polyphénols, cidres, mais de tant d'autres choses avec toi. Evidemment, je garde pleins de souvenirs de notre passage à Firenze ! **À Yann G.**, tu n'étais pas impliqué directement dans ce projet, mais c'est aussi à cause de toi, que je suis là où je suis... et que je m'éclate dans le cidre... Je garde, tu le sais, un souvenir mémorable de la panne de voiture sur l'autoroute Rennes-Caen... On ne peut pas rêver mieux pour faire connaissance... OK, on peut rêver mieux comme compagnie...

Aux membres du COREC, aux professionnels de la filière, à tous ceux qui ont participé à nos dégustations, à nos interventions et plus particulièrement, **A Alain LeP.** pour ta connaissance de ce produit que tu as partagé avec moi depuis que je suis rentré dans « le milieu ». **À David C.** pour ton implication lors de la genèse de ce projet, j'ai eu beaucoup de plaisir à échanger avec toi sur la qualité du cidre dans le Casdar et dans le projet CISAVEUR. Les ovoproduits n'ont plus de secret pour toi aujourd'hui... Peut-être qu'à l'occasion tu pourrais me faire découvrir cet univers sensoriel ? **À Patrice B.** pour ton soutien au sein du COREC et pour l'intérêt porté à l'ensemble de nos travaux. **À Valerie S.** pour ton énergie et la confiance dont tu m'as témoigné en m'invitant à participer au concours du cidre à Fouesnant, un retour à la source... Merci pour la taille du cerisier (que les acquéreurs de ma maison se sont empressés de couper à la base !!!)

A Gilles de R. d'avoir accepté de rapporter ce travail, il me semblait important d'avoir un œnologue sensoriste dans mes rapporteurs. **A Catherine M.G.C.R.**, d'avoir également accepté cette mission, je connais ta rigueur scientifique, il me semblait important que tu critiques mon travail. **A Anne S.E.**, nous nous sommes croisés au hasard d'un recrutement à Dijon, merci d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse, merci de tous tes encouragements, j'espère sincèrement que nous aurons l'occasion de travailler ensemble dans un avenir proche. **A Carole P.**, ça fait un moment que l'on se croise, depuis une de tes thésardes, aujourd'hui responsable de laboratoire... je suis heureux que tu aies accepté d'être dans mon jury, je connais ta rigueur et ta précision dans cet exercice. Encore une fois, Merci à **Emira** et à **Sylvie**.

A toi.

Sommaire

Introduction	1
Partie I. Revue Bibliographique	5
Chapitre 1. Le cidre, des pommes, du goût	6
1.1. Les propriétés organoleptiques du cidre.....	6
1.2. La composition chimique du cidre.....	9
1.2.1 Du Sucre à l'éthanol.....	9
1.2.2 Acide malique ou lactique ?.....	11
1.2.3 Les polyphénols.....	12
1.2.4 Les composés aromatiques.....	14
1.2.5 Des bulles, de la mousse, du CO ₂	15
1.3. La modulation de la composition chimique des cidres.....	15
1.3.1 La matière première : des pommes à cidre.....	16
1.3.2 Des pratiques cidricoles influençant fortement la composition chimique finale des cidres	17
En résumé.....	20
Chapitre 2. La perception sensorielle	21
2.1. La physiologie de la gustation et de l'astringence.....	22
2.1.1 La gustation.....	23
2.1.2 L'astringence : une sensibilité somesthésique trigéminal.....	26
2.2. Les interactions.....	28
2.2.1 Trois niveaux d'interactions.....	28
2.2.2 Sucré, acide, amer, astringent et interactions.....	29
Partie II. Problématique et démarche expérimentale	40
1.1. Problématique et hypothèses de travail.....	41
1.2. Démarche expérimentale.....	43
1.2.1 Des procyanidines purifiés.....	43
1.2.2 Un panel entraîné à l'évaluation sensorielle.....	44
1.2.3 Une démarche pas à pas basée sur l'utilisation de plans d'expériences.....	44
Partie III. Résultats et discussions	47
Chapitre 1. Sur l'impact des procyanidines en relation avec les autres composés sapides (sucres, acide et alcool)	48
1.1. Impact du degré de polymérisation et de la concentration en procyanidines sur les caractéristiques sensorielles.....	49
1.1.1 Introduction.....	50
1.1.2 Materials and Methods.....	51
1.1.3 Results.....	55
1.1.4 Discussion.....	59
1.1.5 Conclusion.....	62
Synthèse de cette étude.....	62

1.2. Impact du degré de polymérisation et interactions avec les autres composés principaux de la matrice cidricole	63
1.2.1 Introduction	64
1.2.2 Materials and Methods.....	66
1.2.3 Results.....	68
1.2.4 Discussion.....	73
1.2.5 Conclusion.....	76
Synthèse de cette étude	77
1.3. Prédiction des caractéristiques organoleptiques des cidres en fonction de leur composition chimique.....	78
1.3.1 Introduction	79
1.3.2 Materials and methods.....	81
1.3.3 Results and discussion	85
1.3.4 Conclusion.....	90
Synthèse de cette étude	91
Chapitre 2. Sur l'impact du dioxyde de carbone (CO₂) en relation avec les autres composés sapides (sucres, acide, alcool et procyanidines)	93
Introduction	95
2.1.1 Materials and Methods.....	96
2.1.2 Results and Discussion	100
2.1.3 Conclusion.....	105
Synthèse de cette étude	106
Chapitre 3. Sur les interactions arômes-saveurs dans le cidre	107
3.1.1 Introduction	109
3.1.2 Materials and methods.....	111
3.1.3 Results.....	114
3.1.4 Discussion.....	118
3.1.5 Conclusion.....	121
Synthèse de cette étude	122
Partie IV. Discussion générale et Perspectives	123
1.1. L'importance des procyanidines dans la construction gustative des cidres	124
1.1.1 L'impact des procyanidines sur l'amertume.....	124
1.1.2 L'impact des procyanidines sur l'astringence.....	125
1.1.3 Les spécificités propres aux procyanidines étudiés	127
1.2. Vers la construction de modèles prédictifs des caractéristiques sensorielles en fonction des composés chimiques du cidre	128
1.3. D'autres variables à intégrer	132
Partie V. Conclusions.....	133
Références	135
Index des tableaux	145
Index des figures	146
Annexes et publications scientifiques.....	147

Introduction

Surtout implantée dans l'ouest de la France, la filière cidricole a un chiffre d'affaires d'environ 200 millions d'euros (FranceAgriMer, 2014) et le marché du cidre représente environ 1 000 000 d'hectolitres par an dont un peu moins de 10% sont exportés. Cette filière emploie 800 salariés dans le cadre de la transformation du produit. À ce chiffre, il faut ajouter de nombreux emplois induits en amont (artisans et agriculteurs fournisseurs de pommes) et en aval (crêperies, cavistes, magasins d'alimentation).

Le marché du cidre est à la fois fortement saisonnalisé, avec un pic de consommation au début de l'année et un en été, et régionalisé (40% de la consommation situés en Haute et Basse-Normandie, Bretagne, Pays de la Loire). Ce marché connaît depuis quelques années une érosion en volume qui mobilise les professionnels à travers des actions de communication (FranceAgriMer, 2012) et plusieurs projets pour travailler sur la maîtrise de la qualité des produits et sur l'identification des attentes des consommateurs (Didier et al., 2012, MAIPROCI, 2011).

Si une politique de soutien de la communication des produits cidricoles est engagée pour soutenir la consommation et chercher de nouveaux consommateurs, les cidriers restent persuadés que la maîtrise de la qualité des produits et particulièrement de leur goût est également un enjeu important. Il leur faut *mieux piloter l'élaboration de leurs produits pour pouvoir mettre demain sur le marché des cidres qui plaisent à leurs consommateurs, tous différents* (Didier, 2011). Cette maîtrise passe par la compréhension des conséquences de l'ensemble des choix variétaux et technologiques que le cidrier doit faire lors de production du produit. Les travaux de recherche, notamment de l'Institut Français des Productions Cidricoles et de l'équipe de recherche Polyphénols, Réactivité,

Procédés (PRP) de l'UMR BIA (anciennement Unité Recherche Cidricole de l'INRA) ont permis de beaucoup progresser vers cette maîtrise. Cependant, la production cidricole fait toujours preuve d'un certain empirisme qui est ancré dans une production agricole traditionnelle et des pratiques parfois ancestrales.

Il n'est pas question ici de refaire un historique du cidre de l'origine des temps à aujourd'hui. Il n'est pas question non plus de chercher qui furent les premiers, des Bretons ou des Normands, à produire ce breuvage, même s'il est probable que ces derniers soient gagnants (Duval, 1896). Mais rappelons cependant que l'on mentionne des boissons à base de pommes fermentées sous différentes appellations (*sicera, pomacium, vinum ex malis...*) dès l'antiquité notamment avec Pline en l'an 80. Les romains en consommaient aussi et certains auteurs supposent qu'ils ont participé à la diffusion de celui-ci à travers l'Europe et en France notamment. Très tôt des auteurs mentionnent comment doit être fabriqué un bon cidre (Palladius IIème siècle cité par Boutteville et al., 1875, Duval, 1896). Des traités y sont même consacrés faisant état des bonnes pratiques, listant les variétés à utiliser et vantant les propriétés « médicinales » du cidre qui est souvent mis en parallèle avec le vin et le poiré (Boutteville et al., 1875, Le Paulmier de Grantemesnil, 1589).

Dans ces ouvrages anciens s'intéressant au cidre, à sa production et à sa consommation, le goût est un point commun qui revient sans cesse.

Le goût intervient dès le choix des variétés de pommes pour lesquels selon Boutteville et al. (1875),

Les qualités requises résultent de la recherche d'une harmonie des proportions dans lesquels se trouvent associés plus particulièrement ses principaux éléments constitutifs (NDR : le sucre, l'acidité, l'amertume, le tanin, le parfum)

Le goût du cidre s'exprime quant à lui pleinement par la recherche d'équilibres organoleptiques particuliers et ce, depuis très longtemps :

Le goût du cidre est de plus grande importance pour faire jugement de sa bonté et vigueur. (...) . Tout bon cidre récent est doux ou amer (...) les mauvais cidres sont surs ou aigres. (...). Tout cidre doux est excellent et de bon visage (...) s'il est fin, délicat et en parfaite maturité. (..) Tout cidre amer est encore cru et loin de sa perfection , l'amertume le tourne avec le temps en force et vigueur... (Le Paulmier de Grantemesnil, 1589)

À la fin du XIX^{ème} siècle, on peut constater, à la lecture d'un périodique intitulé *Le Cidre et le Poiré, revue mensuelle pratique et commerciale de la pomologie et des industries agricoles* entre 1890 et 1906, l'importance du sucré, de l'acidité, de l'amertume et de l'astringence qui reviennent sans cesse pour décrire notamment les caractéristiques positives et négatives dans les essais variétaux de l'époque.

Beaucoup, plus proche de nous, une étude réalisée pour la filière cidricole a montré combien ces quatre caractéristiques sensorielles sont importantes, même si la dimension aromatique, la couleur et l'effervescence ne peuvent être occultées. Nous concluons au terme de cette étude (Symoneaux, 2012 - article complet mis en annexe I pour information) qu'

Il apparaît une tendance dans le type de cidre que les consommateurs apprécient en fonction de leur connaissance du produit et de leur fréquence de consommation. Cela conduit le nouveau consommateur à préférer des produits plus fruités et sucrés. Il vaut mieux donc favoriser un premier contact avec le cidre par des produits doux, demi-secs avec des notes fruitées, compotées. (...)

Par l'habitude, par une consommation plus importante, il apparaît que l'appréciation des produits plus bruts (NDR : plus amers et astringents) et présentant des notes aromatiques moins fruitées allant éventuellement vers des notes de cuirs et d'évolution, augmente. La cible des consommateurs « traditionnels » revendique une moindre appréciation des produits très sucrés ; mais comme les autres consommateurs, ils rejettent les produits trop secs et très amers (...)

Le goût sucré, l'acidité, l'amertume et, même si elle n'est pas toujours citée, l'astringence sont donc au cœur de la qualité des cidres. Ces caractéristiques sont certes apportées par le choix des variétés mais, ensuite, c'est l'ensemble des itinéraires techniques qui va les moduler (Bauduin and Le Quéré, 2012) pour donner le « goût » du cidre.

D'ailleurs, les professionnels ont clairement identifié que le contrôle des procédés en lien avec ces caractéristiques est un enjeu important pour la filière. L'amélioration et la maîtrise de la qualité organoleptique des produits sont des objectifs importants pour toutes les filières de transformation. La demande professionnelle est donc de parvenir à maîtriser les procédés de fabrication, afin de

garantir la qualité des cidres et autres produits cidricoles, et d'en renforcer la diversité. Les transformateurs ont conscience de cet enjeu qu'ils mentionnaient d'ailleurs en introduction d'un programme interrégional MAIPROCI (2008-2010)

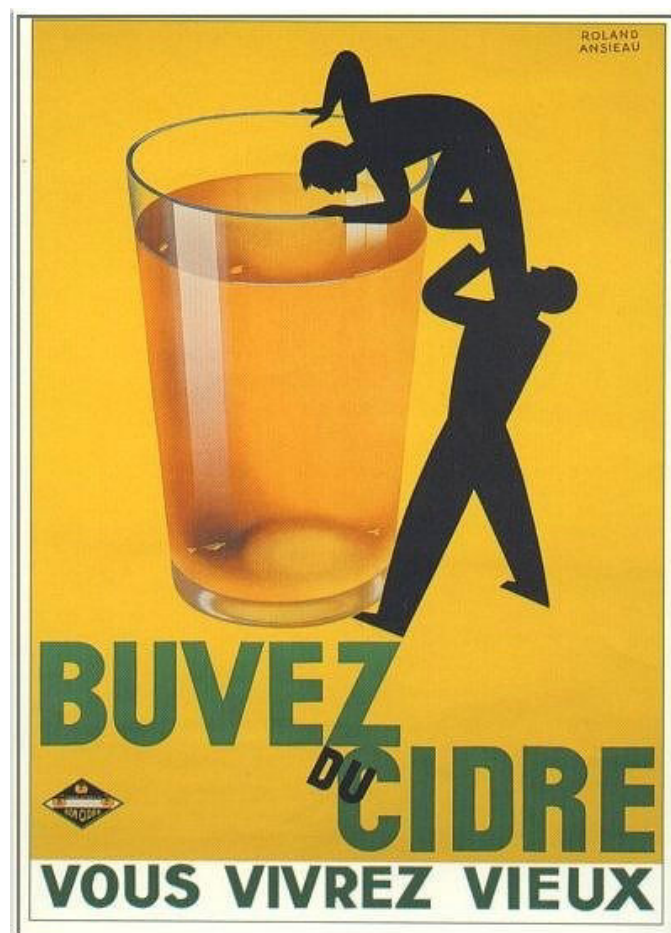
Afin de parvenir à la maîtrise des procédés pour garantir la qualité et la régularité des productions, plusieurs aspects en lien avec les polyphénols sont à prendre en compte. Au niveau gustatif, la recherche de l'équilibre entre les saveurs implique, en particulier, le contrôle de l'amertume et de l'astringence.

Mais si aujourd'hui, les travaux de ce programme MAIPROCI (Bauduin and Le Quéré, 2012) ont permis de progresser fortement dans la compréhension de la modulation des polyphénols par les principales opérations technologiques (vitesse de pressage, clarification pré ou post-fermentaire) et par le type de pommes utilisées, le lien entre les composés chimiques présents dans le cidre et les caractéristiques sensorielles n'a été que très peu exploré.

Certes, comme nous le montrerons dans la partie bibliographique commençant ce manuscrit, les effets principaux du fructose sur la sucrosité, de l'acidité totale et du pH sur l'acidité perçue, de la concentration en polyphénols sur l'amertume et l'astringence sont bien décrits dans la littérature. Cependant, les interactions entre ces composés, auxquels il faut rajouter également l'alcool, les arômes et le CO₂ sont plus ou moins bien décrits dans des matrices complexes et, dans tous les cas, très rarement dans une matrice cidricole.

L'objectif général de cette thèse est donc d'étudier comment le fructose, l'acide malique, les procyanidines, l'alcool, le gaz carbonique et les molécules volatiles interagissent entre eux pour construire la flaveur du cidre en se focalisant sur les trois saveurs (sucrée, acide et amère) et l'astringence. Après une revue de la littérature mentionnant le cidre, son goût et sa composition chimique, puis les interactions, la première partie, un peu plus développée, s'intéresse plus particulièrement au rôle des procyanidines sur les quatre caractéristiques sensorielles mentionnées précédemment. Elle intègre l'impact de leur concentration, du degré de polymérisation, et enfin des interactions entre fructose, acidité, éthanol et composition polyphénolique. Cette approche a été réalisée en solution modèle. La deuxième partie étudie également en solution modèle l'influence du CO₂ sur les sensations précédemment mentionnées. La troisième partie étudie l'impact de la composante aromatique sur les saveurs et l'astringence dans des cidres commerciaux. Enfin, l'ensemble de ces résultats sera discuté dans la dernière partie de ce manuscrit.

Partie I. Revue Bibliographique



Chapitre 1. Le cidre, des pommes, du goût

D'un point de vue réglementaire (E.N.C.C.R.F, 1953), *le cidre est une boisson issue de la fermentation de moût de pommes ou d'un mélange de moûts de pommes (...) fraîches, extraits avec ou sans addition d'eau. Les moûts utilisés peuvent être partiellement issus de moûts concentrés sous réserve que la proportion de ces derniers n'excède pas 50 % du volume total des moûts mis en œuvre ; le volume du moût concentré est calculé après reconstitution. L'adjonction de gaz carbonique (CO₂) exogène est possible.*

Après avoir introduit les caractéristiques sensorielles générales des cidres en résumant l'ensemble des attributs sensoriels utilisés dans la littérature, une présentation de leur composition chimique est réalisée par l'analyse notamment d'une base de données contenant 137 cidres. Enfin, cette diversité chimique et sensorielle est mise en perspective avec les différentes étapes de production du cidre.

1.1. Les propriétés organoleptiques du cidre

Les travaux de recherche intégrant les caractéristiques organoleptiques du cidre ne sont pas très nombreux. Seules quelques équipes de recherche ont mené ou mènent encore des projets intégrant l'analyse sensorielle de manière plus ou moins rigoureuse. L'ensemble des attributs sensoriels utilisés dans ces travaux a été listé (Table 1) en ne gardant que les 15 publications dans lesquelles l'évaluation sensorielle a été faite par un panel entraîné et en occultant les attributs hédoniques.

Les principales caractéristiques sensorielles qui ressortent sont l'acidité, l'astringence, l'amertume et le goût sucré ce qui souligne l'importance de ces trois saveurs et de cette sensation tactile en bouche

dans l'évaluation des cidres. Au niveau aromatique, plusieurs attributs ressortent de manière plus récurrente : pomme, fruitée, floral, animal, des notes médicamenteuses et levures.

Table 1 : Liste des attributs sensoriels utilisés dans la littérature. Par simplification, les odeurs et arômes ont été regroupés.

Attributs sensoriels	Références	Nombre de références
Acide	(Antón et al., 2014, Riekstina-Dolge et al., 2013, Riekstina-Dolge et al., 2012, Le Quéré et al., 2006, Yulianti et al., 2005, Husson et al., 2004, Boylston et al., 2003, Lea, 1978, Lea, 1990, Symoneaux, 2012)	10
Astringent	(Antón et al., 2014, Riekstina-Dolge et al., 2013, Riekstina-Dolge et al., 2012, Le Quéré et al., 2006, Husson et al., 2004, Boylston et al., 2003, Lea, 1978, Lea, 1990, Symoneaux, 2012)	9
Pomme	(Riekstina-Dolge et al., 2013, Riekstina-Dolge et al., 2012, Le Quéré et al., 2006, Yulianti et al., 2005, Husson et al., 2004, Williams, 1975, Boylston et al., 2003, Symoneaux, 2012)	8
Amer	(Antón et al., 2014, Riekstina-Dolge et al., 2013, Riekstina-Dolge et al., 2012, Le Quéré et al., 2006, Husson et al., 2004, Lea, 1978, Lea, 1990, Symoneaux, 2012)	8
Sucré	(Antón et al., 2014, Le Quéré et al., 2006, Yulianti et al., 2005, Husson et al., 2004, Boylston et al., 2003, Lea, 1978, Lea, 1990, Symoneaux, 2012)	8
Fruit	(Sánchez et al., 2014, Antón et al., 2014, Riekstina-Dolge et al., 2013, Riekstina-Dolge et al., 2012, Le Quéré et al., 2006, Williams, 1975, Symoneaux, 2012, Buron et al., 2011)	8
Animal	(Sánchez et al., 2014, Le Quéré et al., 2006, Husson et al., 2004, Symoneaux, 2012, Buron et al., 2011)	5
Floral (rose...)	(Sánchez et al., 2014, Antón et al., 2014, Le Quéré et al., 2006, Husson et al., 2004, Williams, 1975)	5
Pharmaceutique/ Chimique	(Sánchez et al., 2014, Le Quéré et al., 2006, Husson et al., 2004, Williams, 1975, Buron et al., 2011)	5
Levure	(Riekstina-Dolge et al., 2013, Riekstina-Dolge et al., 2012, Le Quéré et al., 2006, Husson et al., 2004, Williams, 1975)	5
Vinaigre	(Antón et al., 2014, Le Quéré et al., 2006, Husson et al., 2004, Williams, 1975)	4
Caramel	(Le Quéré et al., 2006, Yulianti et al., 2005, Williams, 1975)	3
Pomme Cuite	(Le Quéré et al., 2006, Boylston et al., 2003, Symoneaux, 2012)	3
Champignon	(Le Quéré et al., 2006, Husson et al., 2004, Williams, 1975)	3
Moisi	(Yulianti et al., 2005, Husson et al., 2004, Williams, 1975)	3
Epicé	(Sánchez et al., 2014, Antón et al., 2014, Williams, 1975)	3
Sulfure (Choux...)	(Sánchez et al., 2014, Husson et al., 2004, Williams, 1975)	3
Alcool	(Sánchez et al., 2014, Williams, 1975, Symoneaux, 2012)	2
Beurre/Crème	(Sánchez et al., 2014, Le Quéré et al., 2006)	2
Fromage	(Sánchez et al., 2014, Husson et al., 2004)	2
Pomme à cidre	(Le Quéré et al., 2006, Husson et al., 2004)	2
Clareté	(Riekstina-Dolge et al., 2013, Riekstina-Dolge et al., 2012)	2
Terreux	(Williams, 1975, Symoneaux, 2012)	2

Attributs sensoriels	Références	Nombre de références
Gras	(Husson et al., 2004, Williams, 1975)	2
Caractéristique de la mousse	(Suárez Valles et al., 2008, Picinelli Lobo et al., 2005)	2
Lies	(Antón et al., 2014, Le Quéré et al., 2006)	2
Cheval	(Williams, 1975, Buron et al., 2011)	2
Phénolé	(Williams, 1975, Buron et al., 2011)	2
Végétal	(Le Quéré et al., 2006, Williams, 1975)	2
Acétaldehyde*	(Williams, 1975)	1
Amyl alcohol*	(Williams, 1975)	1
Équilibré	(Husson et al., 2004)	1
Banane	(Williams, 1975)	1
Calvados	(Le Quéré et al., 2006)	1
Carton	(Boylston et al., 2003)	1
Agrumes	(Symoneaux, 2012, Buron et al., 2011)	2
Ethyl Acetate*	(Williams, 1975)	1
Ethyl Gaiacol*	(Williams, 1975)	1
Fruits exotiques	(Le Quéré et al., 2006)	1
Pomme verte	(Husson et al., 2004)	1
Persistance aromatique	(Husson et al., 2004)	1
Miel	(Husson et al., 2004)	1
Lacté	(Antón et al., 2014)	1
Intensité odorante	(Suárez Valles et al., 2008)	1
Poir	(Williams, 1975)	1
Ananas	(Williams, 1975)	1
Rhubarbe	(Williams, 1975)	1
Pomme Mure	(Husson et al., 2004)	1
Caoutchouc	(Williams, 1975)	1
SO ₂ *	(Williams, 1975)	1
Savon	(Williams, 1975)	1
Solvant	(Le Quéré et al., 2006)	1
Foin / Paille	(Le Quéré et al., 2006)	1
Sucré	(Sánchez et al., 2014)	1
Intensité Aromatique	(Suárez Valles et al., 2008)	1
Texture	(Le Quéré et al., 2006)	1
Sous-Bois	(Le Quéré et al., 2006)	1
Vanille	(Le Quéré et al., 2006)	1
Boisé	(Le Quéré et al., 2006)	1

*Les auteurs ont utilisé le nom de la molécule comme attribut sensoriel

Même si certains des attributs aromatiques mentionnés dans la Table 1 pouvaient être regroupés étant donnée leur proximité sémantique et/ou sensorielle, il faut noter la diversité des attributs générés pour caractériser les cidres. Cette diversité témoigne d'une complexité aromatique dans l'univers sensoriel des cidres.

Peu mentionnée dans les publications scientifiques cidricoles, la couleur est un élément important des cidres. Si la majorité d'entre eux présente des couleurs dans les teintes orangées et jaunes paille, des cidres aux couleurs très pâles ou à l'inverse très saturées existent. Ces dernières années, des cidres rosés ou le Guillevic, un cidre « blanc » sont entrés sur le marché.

La limpidité est également un attribut rarement cité dans la description des cidres dans les articles scientifiques. La réalité du marché comporte cependant de nombreux produits qui présentent un trouble naturel.

Enfin, seuls quelques travaux abordent l'effervescence des cidres mais en se focalisant sur la partie visuelle : les bulles et la mousse (Suárez Valles et al., 2008, Picinelli Lobo et al., 2005). La perception de l'effervescence en bouche n'est pas prise en compte dans ces travaux.

1.2. La composition chimique du cidre

Les expressions organoleptiques précédemment décrites sont la résultante de la présence de composés chimiques que nous allons détailler maintenant. Si le cidre est avant tout composé d'eau, ses composés principaux sont les sucres (fructose et glucose), l'éthanol, des acides, des polyphénols, des composés aromatiques volatils et du gaz carbonique.

Dans les paragraphes suivants, la composition chimique des cidres français est présentée à travers l'exploitation de bases de données disponibles dans la filière cidricole. La concaténation des données provenant des travaux de Le Quéré, Husson, Renard & Primault (2006) contenant 90 cidres commerciaux et de celles provenant de l'analyse de 47 cidres dans le projet Casdar « Le cidre, d'une logique de l'offre vers une démarche marketing de la demande » réalisé entre 2008 et 2011 permet d'avoir une approche relativement exhaustive de la composition chimique des cidres.

1.2.1 Du Sucre à l'éthanol

Le cidre contient majoritairement du fructose 80-90 % mais également du glucose et très peu de saccharose (le plus souvent pas du tout). La quantité de sucres résiduels qui se trouvent dans le cidre est liée au choix technologique fait par le cidrier de la densité d'arrêt de la fermentation alcoolique ainsi que de la densité du cidre de base au moment de l'embouteillage lors d'une prise de mousse en

bouteille. Par ce choix, il détermine si son produit sera « Brut » avec une teneur en sucres résiduels inférieure à 28 g/L, « Demi-Sec » ou « Doux ». La réglementation autorise la dénomination « Doux » uniquement pour les cidres dont le degré alcoolique est inférieur à 3% Vol. et dont la teneur en sucres résiduels est supérieure à 42 g/L pour un cidre « bouché » (supérieure à 35 g/L pour les autres cidres). Cette dénomination relative au « Bouché » est réservée aux produits ayant une teneur en anhydride carbonique au moins égale à 3 g/L pour les cidres obtenus par fermentation naturelle en bouteille et à 4 grammes par litre pour les autres cidres (E.N.C.C.R.F, 1953).

Du fait de la fermentation alcoolique, la quantité d'éthanol et la quantité de sucres résiduels sont dépendantes. En effet, les levures en condition anaérobie vont utiliser le sucre et produire de l'éthanol et du CO₂. Aussi, le sucre initialement présent dans le moût est transformé (tout ou partie) en éthanol. Le taux d'alcool est donc inversement proportionnel à la teneur en sucres résiduels.

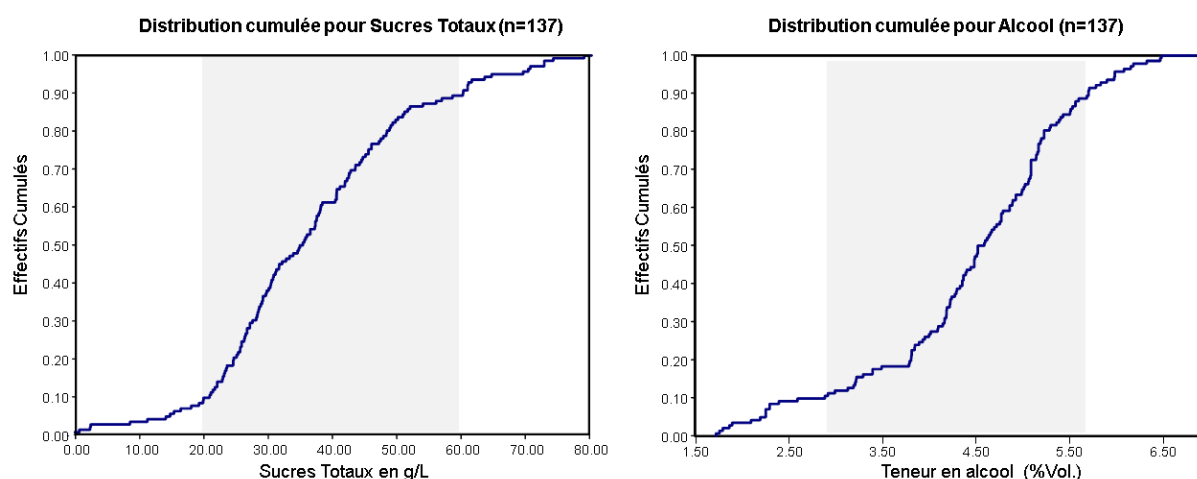


Figure 1 : Distribution cumulée de la teneur en sucres totaux et en alcool dans la sélection de 137 cidres français.

Le marché français du cidre se partageant entre les cidres bruts et les cidres doux, on constate que la quantité de sucres résiduels s'étend de près de 0 g/L à 80 g/L (Figure 1). 80% de l'échantillon étudié (après avoir enlevé les 10% de cidres présentant les teneurs les plus faibles et 10% de ceux aux concentrations en sucre les plus fortes) présentent une teneur en sucre allant de 20 à 60 g/L. La teneur en alcool quant à elle s'étend de 1,76 pour le cidre le moins alcoolisé à 7,20% Vol. pour le plus

alcoolisé. Si 10% des cidres les moins alcoolisés et 10 % des plus alcoolisés sont retirés de l'échantillon, la concentration en alcool va de 2,7 à 5,7% Vol.

1.2.2 Acide malique ou lactique ?

L'acidité des cidres provient des pommes utilisées pour faire le moût et notamment de l'utilisation des variétés aigres ou acidulées. L'acide principal de la pomme est l'acide malique. De ce fait, cet acide se retrouve en grande proportion dans les cidres. Cependant au cours de l'élaboration du cidre l'acidité évolue naturellement. D'ailleurs l'acide malique peut être modifié dans certaines conditions en acide lactique par les bactéries du même nom par le processus de transformation malolactique (TML). Ce processus conduit à une diminution de l'acidité totale et à une augmentation de 0,2 à 0,4 unité pH.

Le plus souvent, dans le cidre, la TML n'est pas désirée car elle a des incidences technologiques (fragilisation du produit, instabilisation de la couleur, baisse de la fermentescibilité...) liées à l'augmentation du pH et à la consommation de nutriments par les bactéries lactiques. Cependant certains cidriers la maîtrisent car elle a des incidences organoleptiques à travers l'évolution de l'acidité et la synthèse de composés volatils secondaires.

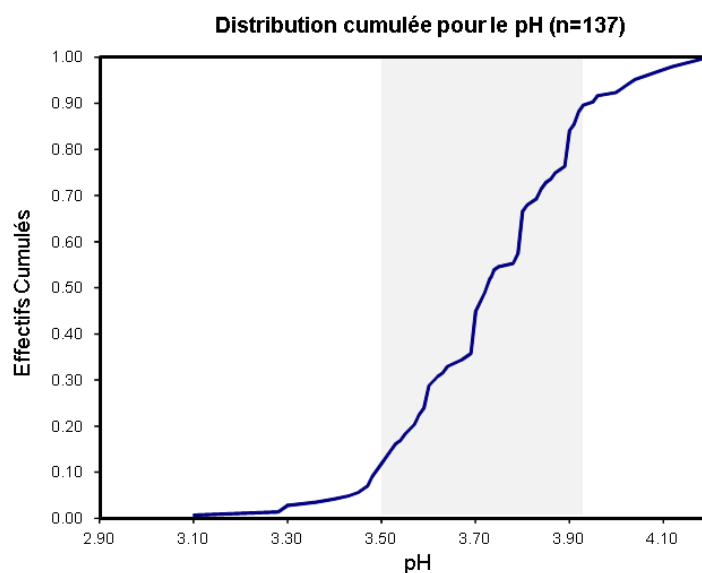


Figure 2 : Distribution cumulée du pH des 137 cidres étudiés

Dans les 137 cidres des bases de données mentionnées précédemment, l'acidité totale du cidre le moins acide est de 1,11 g/L eq. H_2SO_4 , ce qui correspond à 1,52 g/L d'acide malique. L'acidité

exprimée en équivalent acide malique va de 1,52 à 7,47 g/L . En raison de la présence des acides mentionnés préalablement, le pH des cidres est acide, il évolue entre 3,1 pour les plus acides à 4,2 pour les moins. Les 80 % des cidres de l'échantillon étudié se situent entre 3,48 et 3,94 (Figure 2)

1.2.3 Les polyphénols

Comme nous l'avons vu précédemment, une très forte spécificité des cidres français réside dans l'utilisation de pommes à cidre riches en polyphénols et notamment en procyanidines (Sanoner et al., 1999). Cette spécificité donne aux cidres finis des caractéristiques chimiques particulières dont la richesse en polyphénols n'est pas la moindre.

Cinq classes de polyphénols sont présentes dans les pommes à cidre (Guyot et al., 1998, Alonso-Salces et al., 2001, Nogueira et al., 2008a), puis dans les cidres. On distingue ainsi les dihydrochalcones, les flavonols, les anthocyanes qui se trouvent en faible quantité dans les cidres. Les acides hydroxycinnamiques et les flavan-3-ols sont présents en plus grande quantité. La catégorie des flavanols contient les monomères représentés majoritairement par l'(-)-épicatéchine dont la structure chimique est présentée dans la Figure 3a. et les formes oligomères et polymères appelées procyanidines ou tanins (Nogueira et al., 2008a). Ces tanins condensés résultent de la polymérisation d'unités monomères de flavan-3-ols. Dans le cidre, les unités d'extensions des procyanidines sont exclusivement constituées de (-)-épicatéchine. Les unités terminales des procyanidines sont essentiellement du (-)-épicatéchine mais on trouve également un peu de (+)-catéchine.

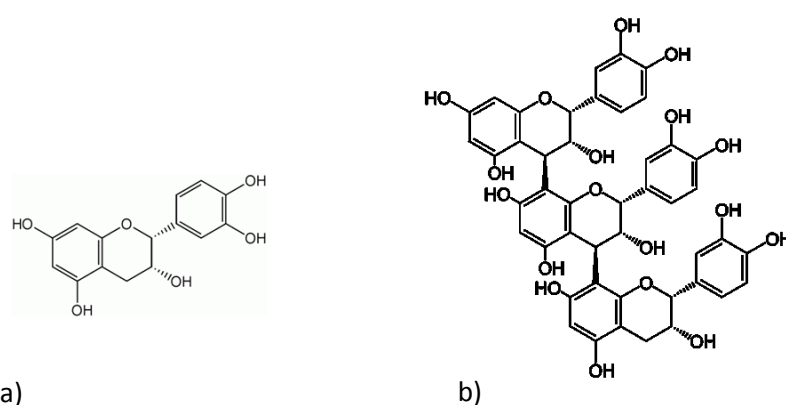


Figure 3 : Structure chimique de a) (-)-épicatéchine et b) du procyanidine C1

La taille des polymères ainsi formés est souvent décrite par le degré de polymérisation (DP). Ce DP représente le nombre de molécules de flavan3ols impliqué dans le polymère. La Figure 3b représente la structure chimique du procyanidine C1 composé de 3 (-)-épicatéchine et qui a donc un DP de 3.

Il est important de noter que les procyanidines du cidre ont des spécificités par rapport à ceux du vin notamment, qui sont probablement les plus étudiés dans les boissons fermentées. En effet, Les tanins du cidre sont beaucoup plus simples que ceux du vin. Ces derniers sont constitués de (+)-catéchine et de (-)-épicatéchine mais avec également une possible galloylation de certaines extensions qui génère au final des structures beaucoup plus variées (Scollary, 2010). De ce fait, ces arrangements structuraux plus complexes doivent conduire à des propriétés chimiques différentes qui pourront peut-être expliquer des différences de perception organoleptique.

Dans un produit, les procyanidines n'ont pas tous le même DP. Or ce degré de polymérisation a, nous le verrons plus loin, des répercussions sur les caractéristiques organoleptiques des produits. Il est possible de quantifier la quantité de procyanidines par thyolise (Guyot et al., 1998). Cette approche permet également d'accéder au degré de polymérisation moyen (aDP) qui rend compte du profil moyen des procyanidines présents dans le milieu. Celui-ci est également accessible par phloroglucinolyse (Kennedy and Jones, 2001). Pour connaître la dispersion par masse de chaque oligomère, la méthode développée sur du cacao par Kelm, Johnson, Robbins, Hammerstone, & Schmitz (2006) a été utilisée.

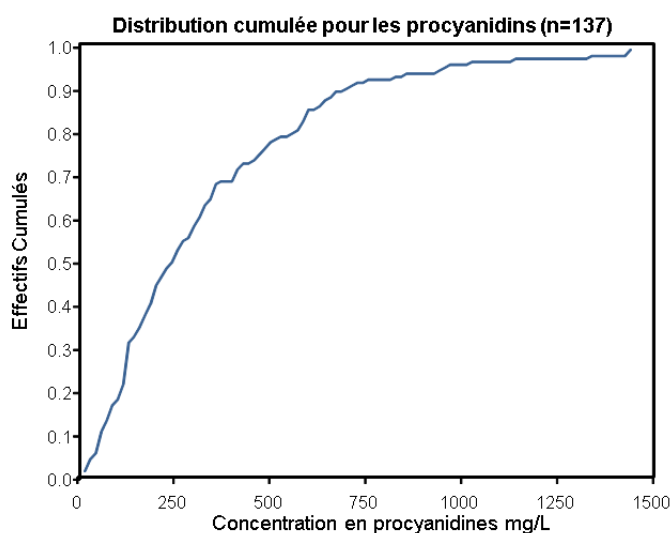


Figure 4 : Distribution cumulée de la concentration en procyanidines pour les 137 cidres étudiés dans les bases de données

La concentration en polyphénols dans les cidres des deux bases de données mentionnées plus haut varie entre 0,76 g/L et 4 g/L mais si on s'intéresse plus particulièrement aux procyanidines, la concentration varie entre 12,6 mg/L et 1450 mg/L (Figure 4). Au-delà de ces 750 mg/L, dans la sélection des 137 cidres, il y a peu de produits mais dans la réalité des cidres fermiers et artisanaux, il est un peu plus courant d'en rencontrer. Parallèlement dans ces bases de données, les degrés de polymérisation moyens rencontrés vont de 1,61 à 3,69 mais peuvent parfois aller au-delà de 4 (Alonso-Salces et al., 2004). Le DP_{moyen} du cidre est donc plus faible que ceux rencontrés dans le vin entre 1,8 et 13 (Chira et al., 2011, Kassara and Kennedy, 2011, Monagas et al., 2003) car les procyanidines sont plus petits.

1.2.4 Les composés aromatiques

Le cidre, comme toutes les boissons fermentées, dispose d'une variété de composés volatils qui vont participer à la construction de la composante olfactive et aromatique de celui-ci.

Les alcools supérieurs sont en concentration inférieure à celle du vin à part pour le phényléthanol qui se trouve à des teneurs proches de celui-ci. Pour les autres alcools supérieurs, les concentrations sont relativement faibles et probablement inférieures aux seuils de détection (Bauduin et al., 2012).

La famille des esters en revanche est présente dans des quantités plus significatives par rapport aux seuils de détection. Elle apporte généralement des notes fruitées aux cidres. Des molécules comme l'éthyl-2-méthylbutanoate, l'acétate de pentyle, l'acétate d'hexyle peuvent, par exemple, être responsables d'odeurs de pomme, de poire, de banane. Ces esters sont d'autant plus importants qu'ils participent à la meilleure acceptabilité des cidres (Yulianti et al., 2004).

Une autre famille de molécules se distingue nettement par son origine. Il s'agit des phénols volatils (vinyl, ethylphenol, ethylgäïacol et ethylcatechol notamment) qui sont produits par les levures *Brettanomyces*, souvent présentes dans la flore naturelle du cidre. Ces molécules sont responsables de notes souvent jugées peu qualitatives en quantité importante et dans tous les cas venant diminuer la composante fruitée des cidres (Bauduin et al., 2012).

Enfin, une famille aromatique regroupe les composés soufrés volatils parmi lesquels on distingue en fonction de leur volatilité des composés soufrés « légers » comme le sulfure d'hydrogène, le

dymethylsulfure, le methanethiol, etc... et des composés « lourds » comme le methionol et son acétate ainsi que l'acide-3-methylpropanoïque et son ester.

Ces composés aromatiques interagissent pour construire les arômes du cidre.

1.2.5 Des bulles, de la mousse, du CO₂

L'effervescence et la mousse du cidre sont la conséquence de la présence de CO₂ dissous dans le produit. À l'ouverture de la bouteille, le retour à la pression atmosphérique permet au gaz de revenir progressivement à l'état gazeux. Outre les caractéristiques organoleptiques apportées directement par les bulles, l'effervescence se comporte comme un révélateur d'arômes car ces bulles comportent certes du CO₂, mais également des composés volatils (Ribéreau-Gayon et al., 2004). De nombreux facteurs physico-chimiques entrent en jeu sur l'apparition des bulles et de la mousse : la nature physique de la surface solide qui sert de sites pour la création des bulles, la viscosité et la composition chimique du liquide avec un rôle important notamment des protéines et des polysaccharides (Ribéreau-Gayon et al., 2004, Blanco-Gomis et al., 2010, Picinelli Lobo et al., 2005, Gallart et al., 2004).

Plusieurs techniques sont utilisées pour apporter ce CO₂ : la prise de mousse en bouteille et la prise de mousse en cuve close suivie de la mise en bouteilles consistent à maîtriser une seconde fermentation par des levures qui, en consommant un peu de sucre, produisent de l'alcool et du CO₂ qui va se dissoudre dans le liquide. La troisième technique consiste à gazéifier le produit lors de la mise en bouteilles par un apport de CO₂ extérieur. Une pression normale se situe entre 2,5 et 3,5 bars (CRAN, 2011).

La réglementation ne se prononce pas sur la pression que l'on doit obtenir pour tous les cidres. Elle mentionne uniquement la teneur minimale pour les cidres bouchés à 4 g de CO₂/L et 3 g/L en cas de prise de mousse naturelle dans la bouteille.

1.3. La modulation de la composition chimique des cidres

Si l'univers sensoriel des cidres présente une grande diversité (sensorielle et chimique), cela est dû aux étapes qui conduisent à son élaboration. Le cidrier est amené à faire des choix, à en subir

d'autres qui vont, les uns après les autres, moduler la composition chimique des cidres et leur conférer des caractéristiques organoleptiques propres.

1.3.1 La matière première : des pommes à cidre

Les caractéristiques de la matière première, donc des pommes, est le premier élément que le cidrier peut chercher à maîtriser.

1.3.1.1 L'impact de la qualité des fruits

Le cidre est le résultat de la fermentation d'un moût issu du broyage de plusieurs variétés de pommes à cidre. Selon les régions et les producteurs, les profils gustatifs recherchés peuvent être très différents et conduisent à l'utilisation de variétés très différentes. Depuis longtemps, celles-ci sont regroupées selon leur acidité et leur teneur en polyphénols. C'est ainsi que se distinguent les pommes amères, les pommes douces-amères, les pommes douces, les pommes acidulées, les pommes aigres, et les aigres-amères (Table 2).

Table 2 : Classification des variétés cidricoles en fonction de leurs teneurs en polyphénols et acidité (Bore & Fleckinger, 1997)

Polyphenols (g/L ac. tannique)	Acidité (meq.l-1)		
	< 60meq/L	Entre 60 et 90meq/L	> 90meq/L
>3g/L	Amère		Aigre Amère
Entre 2 et < 3g/L	Douce Amère		
<2g/L	Douce	Acidulée	Aigre

La composition chimique moyenne de ces variétés a de l'importance sur les caractéristiques des moûts et par conséquent des cidres qui en découlent (Riekstina-Dolge et al., 2012). Certes, les quantités de polyphénols et d'acide peuvent être très différentes (Riekstina-Dolge et al., 2014, Sanoner et al., 1999) mais le choix des variétés peut également impacter le profil aromatique des cidres obtenus (Riekstina-Dolge et al., 2012).

D'autres facteurs interviennent également sur les caractéristiques de ces jus : la conduite du verger comme la maîtrise de charge, la composition du sol, les facteurs climatiques (Primault and Piffard, 2008) et la maturité des fruits (Guillermin et al., 2006).

1.3.1.2 La récolte et le stockage des fruits avant la transformation

La récolte et le stockage des fruits avant la transformation sont deux étapes importantes pour la qualité de la matière première qui va être ensuite broyée et pressée. Une généralisation de la mécanisation de la récolte au sol avec ou sans lavage des fruits aux vergers est observée dans la filière cidricole. Cependant, certains producteurs poursuivent la récolte manuelle. Les fruits subissent ensuite une période de maturation post-récolte qui se termine par une plus ou moins longue attente à même le sol dans les parcs à pommes à l'entrée des cidreries. Ces différents itinéraires et leur durée impactent grandement la qualité sanitaire des fruits avant transformation. Cette dégradation de l'état sanitaire est beaucoup plus favorable aux flores d'altérations qu'aux flores "positives", avec des risques de teneurs très importantes en bactéries lactiques et acétiques. Cependant, les caractéristiques organoleptiques de cidres semblent n'être que peu influencées par ces différences d'état sanitaire. Le risque de la non-maîtrise et de l'apparition de déviations organoleptiques subsiste tout de même (Bauduin, 2011).

1.3.2 Des pratiques cidricoles influençant fortement la composition chimique finale des cidres

La production des cidres à partir des pommes mentionnées précédemment voit un certain nombre d'opérations techniques (Figure 5) qui impacteront plus ou moins la composition chimique et, de ce fait, les caractéristiques organoleptiques des produits obtenus.

1.3.2.1 Le broyage et le pressage

A l'entrée dans l'atelier, les fruits peuvent être triés et lavés avant le broyage puis le pressage. Les concentrations de sucrose, d'éthanol, acide malique peuvent être modulées par les conditions de pressage utilisées comme la vitesse de pressage et le type de broyeur (Mangas et al., 1994). Par ailleurs, la température lors du pressage et les conditions d'oxydation ont un impact significatif sur la concentration en polyphénol et plus particulièrement sur les procyanidines (Renard et al., 2011).

1.3.2.2 La clarification pré et post-fermentaire

L'objectif de la clarification est double : le premier est de rendre le cidre limpide et le second permet un ralentissement de la fermentation et par conséquent une amélioration de sa qualité olfactive

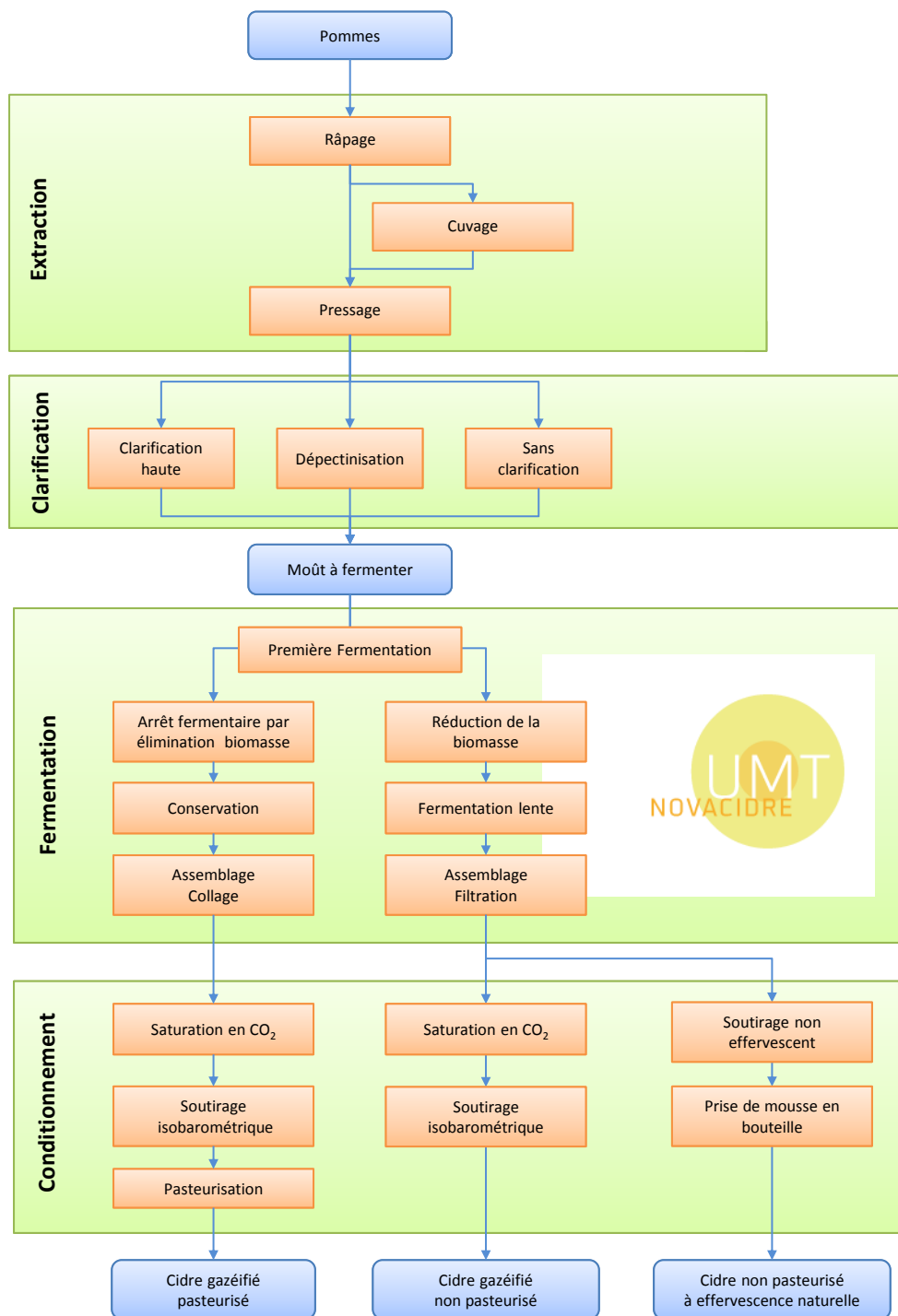


Figure 5 : Schéma des modes d'élaboration des cidres adapté d'une source interne UMT novacidre (IFPC-INRA BIA PRP)

(Lequéré and Bauduin, 2014). La clarification pré-fermentaire impacte significativement la composition du moût de pomme et par conséquent les caractéristiques des cidres obtenus après fermentation (Hubert et al., 2007). La clarification par gélification des pectines (autrement appelée clarification haute) réduit le plus fortement la concentration en flavanols ainsi que le degré de polymérisation moyen des procyanidines présents dans le moût. Mais plus largement, le type de clarification utilisé – clarification haute et flottation, dépectinisation enzymatique suivie d'une sédimentation, d'une microfiltration ou d'un collage à la gélatine – affecte non seulement la concentration en procyanidines mais également la distribution en taille de ceux-ci (Hubert et al., 2007). Par ailleurs, il semble que la clarification pré-fermentaire s'accompagne de la présence de levures apiculées responsables de l'apparition de notes fruitées.

1.3.2.3 La fermentation

La fermentation va évidemment modifier les caractéristiques chimiques des jus notamment par la transformation des sucres en alcool. Mais le profil des polyphénols peut également changer avec une diminution de la quantité de polyphénols et du degré de polymérisation des procyanidines dans les cidres après fermentation (Nogueira et al., 2008a). La réduction de biomasse en cours de fermentation va modifier la vitesse de fermentation avec *in fine* des répercussions sur les saveurs et le profil aromatique des cidres puisque des notes plus fruitées sont attendues avec des fermentations plus longues (Nogueira et al., 2008b). Le profil aromatique va, de ce fait, être fortement modifié au cours de la fermentation en fonction de nombreux paramètres.

Dans la suite de la fermentation alcoolique, la transformation malolactique (TML) va, si elle a lieu, modifier l'acidité du cidre par une augmentation du pH et une apparition de l'acide lactique à la place de l'acide malique. En parallèle, si elle est maîtrisée, notamment avec une inoculation contrôlée, les cidres ayant subi une TML peuvent développer des arômes plus complexes avec notamment des notes fruitées plus intenses (Sánchez et al., 2014).

1.3.2.4 L'assemblage

Pour différentes raisons (décalage dans la maturité des fruits, maîtrise des fermentations avec des lots de pommes plus homogènes...), les cidriers réalisent souvent des fermentations séparées qui seront assemblées à la fin de la fermentation avant la prise de mousse ou l'ajout de CO₂ à la mise en bouteilles. Ces assemblages de produits aux caractéristiques sensorielles très différentes permettent

aux cidriers de maîtriser le profil organoleptique des produits finis en jouant avec la composition des différentes cuvées. Des assemblages variétaux peuvent également être réalisés avant la transformation et donner de très bonnes performances (Riekstina-Dolge et al., 2013)

1.3.2.5 La stabilisation du produit

Peu de travaux scientifiques abordent l'impact de la stabilisation des cidres et l'impact de la pasteurisation. Le screening réalisé par Le Queré et al. (2006) met, cependant, en évidence une possible relation entre la pasteurisation et l'apparition de notes aromatiques de « pommes cuites » ou de « caramel ». Dans des jus de pommes, le traitement thermique peut modifier, dans une certaine mesure, les caractéristiques aromatiques des produits (Yulianti et al., 2005, Boylston et al., 2003) et cela se traduit par des molécules volatiles aux concentrations différentes (Rye and Mercer, 2003).

1.3.2.6 Les techniques pour obtenir l'effervescence

Enfin, certains cidres vont subir une seconde fermentation dans le cas des prises de mousse en bouteille ou en cuve close conduisant à une augmentation de la quantité d'alcool et une diminution de la teneur en sucres résiduels. Le profil organoleptique est donc modifié en conséquence. La difficulté de maîtrise de la quantité de CO₂ conduit à plus de variabilité avec ce type d'effervescence. D'autres cidres sont gazéifiés ce qui permet l'apparition d'une effervescence sans fermentation par l'introduction de CO₂ exogène et donc moins d'évolution de la composition chimique du cidre. Dans les deux cas cependant, l'apparition du CO₂ modifie le pH par une acidification de la solution.

1.3.2.7 Le vieillissement

Il a été montré que le vieillissement influence grandement le profil aromatique des cidres (Madrera et al., 2008). Cependant, il existe peu de travaux sur l'impact du vieillissement du cidre sur les autres caractéristiques chimiques et sensorielles.

En résumé

La littérature compte peu de travaux intégrant les caractéristiques organoleptiques des cidres. Cependant, ces quelques articles soulignent l'importance des descripteurs gustatifs : sucré, acide, amer et astringence qui sont les plus utilisés pour décrire les cidres.

Le cidrier peut moduler ces caractéristiques par les choix variétaux, par la qualité des fruits à la récolte et lors du stockage, et par plusieurs décisions technologiques lors de la cidrification. L'ensemble de ces choix conduisent à des expressions organoleptiques variées, résultante d'une composition chimique en sucre, éthanol, acide organique, polyphénols, composés aromatiques et CO₂ présentant une certaine diversité.

Si l'impact des différentes techniques sur la composition chimique des cidres est assez bien connu, la conséquence des actions de cidrification sur les caractéristiques organoleptiques est moins détaillée ou ne porte que sur une ou deux sensations en particulier.

Le cidrier ne dispose pas d'information permettant de prédire les caractéristiques organoleptiques des produits à partir de la composition chimique, pas plus que de travaux permettant d'anticiper l'impact de ces choix techniques sur l'ensemble des caractéristiques sensorielles.

Chapitre 2. La perception sensorielle

Pour mieux intégrer les caractéristiques sensorielles d'un produit comme le cidre, pour comprendre comment les composés chimiques interagissent lors d'une dégustation, pour prédire ce que les consommateurs vont ressentir lors de la consommation de cidre, il est important de connaître les mécanismes qui entrent en œuvre lors de la dégustation. Cela commence par définir ce qu'est « la perception ».

La perception est la projection sur le champ de la conscience d'une partie des sensations auxquelles un individu est confronté pendant un laps de temps donné. *Elle résulte du traitement que les centres nerveux spécialisés du système sensoriel font subir à l'information brute qu'ils reçoivent des organes récepteurs* (McLeod et al., 2009). Elle est le résultat d'un processus à trois niveaux qui débute par la stimulation de récepteurs sensoriels qui vont générer des influx nerveux qui vont remonter jusqu'au système nerveux central. Cette phase correspond à la transduction. Puis le cerveau va classer et organiser cette information en qualité et en intensité, c'est le codage. Enfin, l'information arrive au niveau des centres supérieurs pour la phase finale d'intégration et converge vers un système intégrateur thalamo-cortical unique. À ce stade, la mémoire et la conscience sont rassemblées avec l'information en un message global qui est alors sensoriel et affectif : la réponse sensorielle (McLeod et al., 2009). C'est dans cette dernière étape que le contexte, l'état physiologique et psychologique de l'individu et les expériences antérieures (dont la familiarité avec le produit) sont intégrés.

Ainsi, quand un cidre est consommé, l'ensemble des molécules qui le compose interagit avec les récepteurs sensoriels, ceux de la vision, de l'olfaction, de la gustation et des récepteurs somesthésiques. Nous verrons plus loin quelques éléments relatifs à cette transduction. Puis les signaux transitent *via* les différentes voies neuronales pour aller jusqu'au cerveau dans lequel

l'information multisensorielle est traitée puis confrontée à la mémoire et notamment aux précédentes dégustations de cidres pour construire finalement la perception du goût du cidre.

Mais la perception d'un produit quel qu'il soit, d'un cidre en particulier, est un système complexe car il implique des interactions entre des processus physico-chimiques et des phénomènes chimiques, physiologiques et comportementaux (Buettner and Beauchamp, 2010). Quand on s'intéresse aux interactions, ces trois niveaux doivent être considérés : interactions chimiques, interactions physiologiques et interactions cognitives (Keast and Breslin, 2003).

Ce manuscrit de thèse s'intéresse prioritairement aux trois saveurs : sucré, acide et amer, et à l'astringence dans le cidre. La revue bibliographique a donc été orientée sur les mécanismes propres à ces sensations et n'abordera pas les composantes visuelle ni olfactive. Après des éléments sur la physiologie du goût et de l'astringence, les interactions seront abordées en montrant spécifiquement comment les quatre sensations étudiées peuvent être modulées par le biais d'interaction avec l'ensemble des éléments composant une matrice alimentaire.

2.1. La physiologie de la gustation et de l'astringence

Le goût, dans son acception la plus large, intègre aussi bien les caractéristiques olfactives, gustatives et trigéminales. Souvent associées, car pour un consommateur *lambda*, le goût est un tout qui combine l'ensemble de ces sensations. Cependant il convient de les distinguer clairement quand on s'intéresse au fonctionnement à proprement parler de nos sens.

La gustation et ses signaux gustatifs prennent leur source dans les bourgeons du goût qui sont stimulés par des molécules solubles dans l'eau lors de leur contact avec l'extrémité des cellules apicales de ces bourgeons gustatifs. Les sensations olfactives, odeurs et arômes, sont le résultat de l'excitation de neurones dans une zone spécialisée de l'épithélium nasal issu de la réaction avec des composés volatils. Des sensations somesthésiques peuvent également prendre place dans la cavité buccale lors de la dégustation du cidre. Ainsi, l'astringence est une sensation somesthésique (Brondel et al., 2013) qui participe également à la construction des caractéristiques organoleptiques du cidre.

2.1.1 La gustation

2.1.1.1 Les bourgeons du goût

Les récepteurs gustatifs se trouvent localisés sur la langue mais également dans une moindre mesure sur le palais, le pharynx et l'épiglotte. Au niveau de la langue, ils se trouvent dans les papilles caliciformes, foliées et fongiformes (Figure 6). Les premières se trouvent en arrière de la langue et comptent jusqu'à 1 000 bourgeons du goût. Les papilles foliées se situent également sur l'arrière mais aussi sur les côtés de la langue. Elles contiennent entre une douzaine et une centaine de bourgeons du goût. Enfin, les papilles fongiformes contiennent d'un à quelques bourgeons du goût et se répartissent sur les deux tiers avant de la langue (Chandrashekar et al., 2006). Au total, un individu normal compte environ 5 000 papilles gustatives.

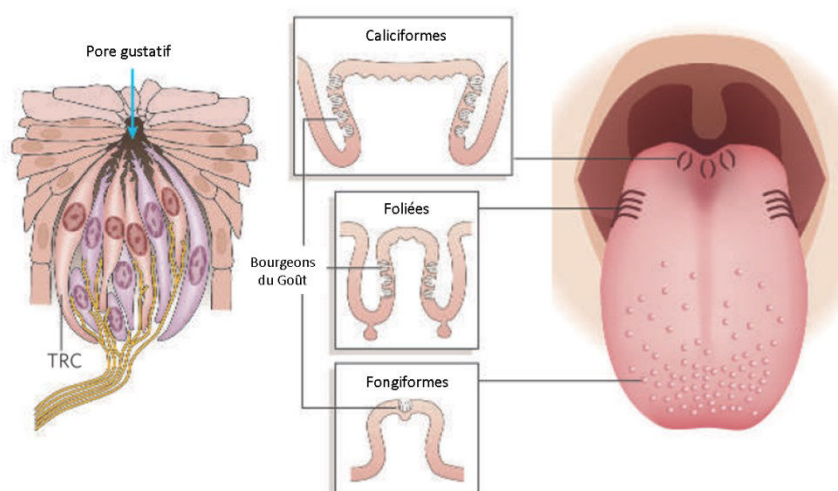


Figure 6 : Cellules gustatives, bourgeons gustatifs et papilles (Adapté de Chandrashekar et al., 2006)

Ces bourgeons du goût contiennent 50 à 150 cellules gustatives neuro-épithéliales polarisées de formes allongées. Leurs extrémités (microvillosités) sont en contact direct avec l'environnement extérieur de la cavité buccale (Chaudhari and Roper, 2010) facilitant par ce moyen l'interaction avec les composés sapides. On distingue quatre types (Type I à Type IV) de cellules gustatives épithéliales (TRC).

Les cellules de Type I sont les cellules les plus nombreuses dans les bourgeons du goût avec des extensions cytoplasmiques qui enveloppent les autres cellules. Elles ont les caractéristiques de cellules gliales. Même si ce sont les cellules les plus abondantes, elles sont les moins connues en termes de fonctionnement (Chaudhari and Roper, 2010). Elles sont, à ce jour, associées à la transduction du goût salé mais sans certitude (Roper, 2013).

Les cellules de Type II ont été renommées « *receptors cells* » (DeFazio et al., 2006) à cause de leur association aux saveurs sucrées, amères et umami. Chaque cellule exprime des protéines G (*G proteins coupled receptors, GPCRs*) spécifique d'une seule saveur. Chaque cellule est donc spécifiquement sensible à une seule de ces saveurs. Par ailleurs, elles ne semblent pas répondre aux stimuli acides et salés. Ces cellules ne possèdent pas de synapse identifiable. De ce fait, le processus de communication entre les cellules réceptrices et les fibres nerveuses afférentes n'est pas encore connu. Cependant, de l'ATP pourrait participer à ce processus puisqu'une production d'ATP a été identifiée quand ces cellules sont activées par une stimulation gustative (Roper, 2013).

Les cellules de Type III sont des cellules présynaptiques spécifiquement sensibles aux stimulations acides mais qui réagissent également à la présence de CO₂ en solution (Chandrashekar et al., 2009). Ces cellules ont en outre la particularité de réagir à l'ATP produit par les cellules réceptrices quand elles sont activées. Ainsi, les cellules de type III sont indirectement excitées par les composés sucrés, amers et umami (Roper, 2013).

Le dernier type de cellules (type IV) correspond à des cellules basales de forme ovoïde ou sphérique peu différenciées qui semblent être les précurseurs des cellules précédentes (Brondel et al., 2013).

2.1.1.2 Transduction des stimuli gustatifs dans les cellules réceptrices

La détection des substances sucrées, amères et umami dans les cellules de types II est due à la présence de récepteurs métabotropiques. Ils se composent des récepteurs du goût (taste receptors, TRs) couplés aux protéines G (GPCRs). L'activation des récepteurs conduit à une augmentation du Ca²⁺ dans le milieu intracellulaire, à l'origine de la production d'ATP dans le milieu interstitiel. Parallèlement, on observe une modification de la perméabilité de certains canaux ioniques, entraînant la dépolarisation de la cellule (Brondel et al., 2013).

Sucré . Les composés sucrés sont détectés par une petite famille (T1R) de trois GPCRs. Comme toutes GPCRs, ces récepteurs possèdent sept hélices transmembranaires : ils se caractérisent par la présence de domaines amino-terminal extra-cellulaires de grande taille appelés Venus Fly Trap (VFT) qui correspondent aux domaines de liaison des agonistes. Spécifiquement, les sucres se lient avec des GPCRs hétérodimères T1R2/T1R3. (Chandrashekar et al., 2006, Chaudhari and Roper, 2010, Roper, 2013).

Amer. Les composés amers interagissent avec environ 25 types de protéines T2R. Ces protéines montrent une grande variabilité ce qui correspond bien à leur capacité d'interagir avec la diversité chimique des ligands associés aux goûts amers (plus de 1 000 composés). Il a été montré qu'une cellule réceptrice peut exprimer plusieurs gènes T2r et peut-être même tous. Par conséquent, il se pourrait qu'il ne soit pas possible de distinguer l'amertume de différents composés amers (Montmayeur and Matsunami, 2002).

L'étude des interactions récepteur-ligand montre que les composés amers ont des affinités différentes vis-à-vis des membres de la famille T2R (Montmayeur and Matsunami, 2002). Aujourd'hui, il est démontré que l'activité combinée des trois récepteurs TAS2R10, TAS2R14 et TAS2R45 peut suffire pour détecter près de la moitié des composés amers détectés par les individus. Il existe par ailleurs des récepteurs très spécifiques pour lesquels seuls quelques agonistes ont été identifiés et parmi les 25 récepteurs, cinq sont encore orphelins (Behrens and Meyerhof, 2013).

Revenons quelques instants aux polyphénols que nous décrivions précédemment dans les cidres. Trois équipes de recherche ont étudié les récepteurs activés par les polyphénols et notamment les flavanols (Soares et al., 2013, Roland et al., 2013, Yamazaki et al., 2013). La (+)-catéchine activerait les récepteurs TAS2R14 & TAS2R39 (Roland et al., 2013) alors que l'un de ces isomères l'(-)-épicatéchine activerait les récepteurs TAS2R4, TAS2R5, TAS2R14 & TAS2R39 (Soares et al., 2013, Roland et al., 2013). La présence de groupes galloylés sur l'épicatéchine modifie l'activation des récepteurs puisque seuls les TAS2R14 & TAS2R39 ont été activés par ECg et EGCg (Yamazaki et al., 2013). Enfin, le seul oligomère testé fut un procyanidine trimère C3 composés de trois unités (+)-catéchine et ce composé n'a activé que les récepteurs TAS2R5 (Soares et al., 2013). Ces résultats montrent que la conformation et la taille des molécules de procyanidines jouent un rôle dans l'activation des récepteurs à l'amertume. Malheureusement, à ce jour aucun projet n'a étudié l'activation des récepteurs T2R par des oligomères et polymères d'épicatéchine qui sont présents en

grande quantité dans le cidre. Plus largement, l'analyse des composés amers s'intéresse à ce jour le plus souvent à des molécules amères simples et de petites tailles.

Acide. Les stimuli acides activent les cellules présynaptiques de Type III. Le processus de transduction et les récepteurs restent à éclaircir. De nombreuses études ont suggéré que les composés acides activent ces cellules par une entrée directe d'ions H^+ à travers des canaux membranaires présents sur l'extrémité apicale des cellules. Mais si à ce jour ceux-ci ne sont pas identifiés avec certitude (Chaudhari and Roper, 2010), il semble que ce sont les cellules qui expriment le canal ionique PKD2L1 qui sont sensibles à l'acidité.

Ce sont également des cellules avec PKD2L1 qui sont activées par le CO_2 . Le récepteur qui est en jeu dans ce cas a été identifié clairement. Il s'agit d'une enzyme anhydrase carbonique 4. Cette enzyme libère des protons H^+ et ceux-ci interagissent avec les cellules sensibles à l'acidité (Chandrashekar et al., 2009). L'origine chimique de la perception du CO_2 ne fait donc plus de doute (Dessirier et al., 2000, Carstens et al., 2002, Simons et al., 1999)

2.1.2 L'astringence : une sensibilité somesthésique trigéminal

L'astringence est une sensation avant tout tactile perçue en bouche produisant une impression de sécheresse et de resserrement des muqueuses (Breslin et al., 1993). Même s'il est largement accepté que les interactions entre les proanthocyanidines et les protéines salivaires jouent un rôle déterminant dans la perception de l'astringence, les mécanismes physiologiques et physico-chimiques ne sont pas encore totalement élucidés (Ma et al., 2014). Charlton et al. (2002) ont mis en avant que l'interaction protéines-tanins repose sur trois phases. Au début, des associations hydrophobiques ont lieu entre les surfaces planes des noyaux aromatiques des tanins et les sites hydrophobiques des protéines. Au même moment, l'effet de liaisons hydrogènes permet de stabiliser les complexes ainsi formés. Ces complexes tanins-protéines peuvent s'auto-associer par l'intermédiaire de nouvelles liaisons hydrogène générant ainsi des plus larges complexes tanins-protéines solubles et puis des agrégats. Enfin ces agrégats peuvent avoir une taille suffisante pour former des sédiments insolubles qui précipitent (Ma et al., 2014). Gibbins & Carpenter (Gibbins and Carpenter, 2013) ainsi que Ma et al. (2014) résumant dans leurs revues respectives les différentes voies d'activation de l'astringence.

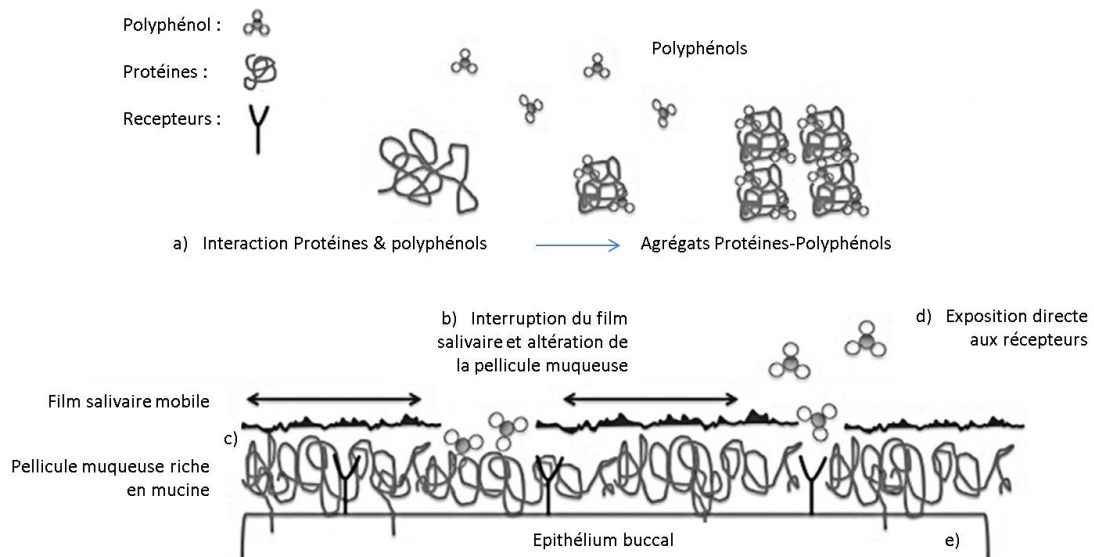


Figure 7 : Mécanisme de l'astringence pouvant apparaître dans la cavité buccale (adapté de Gibbins and Carpenter, 2013).

Une sensation de friction peut intervenir par la présence des agrégats (Figure 7a). Une interaction physique due à la perte du pouvoir de lubrification de la salive semble en revanche être l'un des facteurs majeurs. Plusieurs études montrent que la pellicule muqueuse riche en mucine a également un rôle à jouer. Les agrégats de tanins/protéines, éventuellement également des polyphénols libres peuvent provoquer une rupture du film salivaire conduisant à une perte de lubrification (Figure 7b et c). Enfin, une voie d'activation directe par des récepteurs chimiques (Figure 7d et e) vient d'être identifiée en plus des mécanorécepteurs mais pour des phénols comportant des fractions galloylées (Schöbel et al., 2014).

2.2. Les interactions

2.2.1 *Trois niveaux d'interactions*

Comme nous l'avons mentionné précédemment, trois types d'interactions doivent être considérés quand on observe l'influence de composés chimiques sur la perception d'un produit : les interactions chimiques, les interactions physiologiques et les interactions cognitives (Keast and Breslin, 2003).

Les interactions chimiques peuvent apparaître dans le produit évalué par des réactions entre les composés eux-mêmes conduisant à l'apparition de nouvelles molécules ou la rétention d'autres. Ce phénomène peut, par conséquent, générer de nouvelles caractéristiques sensorielles ou modifier les intensités perçues (Keast and Breslin, 2003). Il a été, par exemple, montré que les polyphénols peuvent modifier le comportement de certaines molécules volatiles dans le vin. L'ajout de catéchine ou d'une fraction de tanins conduit à la rétention de certaines molécules aromatiques modifiant par conséquent le profil sensoriel des produits (Dufour and Bayonove, 1999). Les polyphénols ont des impacts variables sur la volatilité des composés aromatiques. La polarité des composés ainsi que leur conformation semblent influencer la force de ces interactions chimiques (Lorrain et al., 2013).

Les interactions physiologiques ont lieu quand un composé interfère avec un autre au niveau des cellules réceptrices (Keast and Breslin, 2003). Cette interaction est notamment observée dans le cas de la suppression de l'amertume de certaines molécules amères par le sel de sodium (Keast et al., 2001) ou de l'atténuation des saveurs par la présence de la capsïcine (Simons et al., 2003). En plus de ces interactions au niveau des récepteurs, il faut également intégrer de possibles interactions neurophysiologiques qui apparaissent lors du mécanisme de transduction et lors de la convergence des signaux afférents vers le noyau du tractus solitaire, situé dans le système nerveux central (Frijters, 1987).

Enfin, le traitement de l'information dans les différentes parties du système nerveux central peut conduire à des interactions cognitives (Keast and Breslin, 2003). L'intégration de la mémoire au niveau du système limbique, le regroupement des informations multi sensoriels au niveau de l'hypothalamus, puis finalement l'origine de la perception consciente dans le thalamus et le néocortex sont l'occasion de l'apparition de ces interactions. Celles-ci sont fortement modulées par *l'attention, l'habitude, la fatigue ou l'état émotionnel mais aussi les connaissances, la culture et le langage* (Guichard and Voilley, 2012).

Parmi ces interactions cognitives, il faut mentionner une interaction particulière appelée la congruence. Même si la gustation et l'olfaction sont deux entités anatomiquement et physiologiquement différentes, de nombreuses évidences témoignent que les deux composantes interagissent très fortement au niveau perceptuel (Delwiche, 2004, Lim et al., 2014). Comme nous le verrons plus loin, une saveur (*i.e.* sucré) peut ainsi être perçue plus intense en présence d'un arôme congruent avec celle-ci (*i.e.* caramel) qui renforce par conséquent cette caractéristique (Prescott et al., 1996).

Les travaux sur la congruence (Schifferstein and Verlegh, 1996, Frank et al., 1993b) ont par ailleurs révélé une autre interaction cognitive : l'effet de halo-dumping (Prescott, 1999). Il nait d'un artefact dû à la tâche d'évaluation demandée aux dégustateurs (Valentin et al., 2006). Cet effet de halo-dumping peut apparaître quand un sujet n'a pas à sa disposition tous les attributs sensoriels nécessaires pour décrire un produit. Il reporte alors dans l'intensité des attributs qui lui sont proposés, l'intensité des stimuli pour lesquels il ne dispose pas d'échelles de notation (Prescott, 1999). Ainsi dans l'expérimentation de Frank et al. (1993), la caractéristique sucrée d'une solution de sucrose a augmenté avec l'addition d'une odeur de framboise quand seule l'intensité sucrée était évaluée. En revanche, cette augmentation disparaissait quand les sujets évaluaient simultanément l'intensité sucrée et un attribut « fruité ».

2.2.2 Sucré, acide, amer, astringent et interactions

Les interactions mentionnées précédemment font l'objet de nombreuses publications et revues qui rassemblent de nombreux essais sur les interactions entre saveurs, mais également entre les arômes et les saveurs, ou encore la couleur et la flaveur, sans oublier les sensations somesthésiques (Charles et al., 2013, Poinot et al., 2013, Keast and Breslin, 2003, Delwiche, 2004, Buettner and Beauchamp, 2010, Lim et al., 2014, Tournier et al., 2009, Auvray and Spence, 2008).

Keast et Breslin (2002) indiquent que la plupart des études sur les interactions saveurs-saveurs se font sur des solutions binaires et que les solutions plus complexes sont peu étudiées. L'effet de la matrice cependant ne doit pas être négligé. Il montre également combien la concentration des stimuli analysés peut moduler la sensibilité des interactions. En effet, la position de la concentration étudiée sur les phases expansives, linéaires ou compressives des fonctions sigmoïdes psychophysiques faisant le lien entre la concentration d'un stimulus et l'intensité perçue peut conduire à des interactions différentes. La Figure 8 indique les possibles évolutions de la courbe de

perception de l'intensité d'un stimulus en fonction de sa concentration quand une interaction sensorielle est présente. Ainsi, la courbe A correspond à une condition sans interaction. Les courbes B et B' indiquent la présence d'une interaction sensorielle provoquant un effet suppresser qui dans le cas de B ne s'exprime que dans la phase linéaire mais qui est présent également au niveau du seuil de saturation dans le cas de B'. A l'inverse, les courbes C et C' présentent deux situations où l'interaction sensorielle provoque une synergie, une augmentation de l'intensité perçue du stimulus. Ici encore, l'interaction peut être limitée à la phase linéaire (courbe C) ou se poursuivre dans la phase compressive. Dans ce cas, l'intensité est globalement perçue plus forte. On peut d'ailleurs noter que dans ces cas, la saturation arrive pour une concentration du stimulus plus petite. Ces modulations de la courbe psychophysique dépendent des stimuli étudiés et de leurs concentrations.

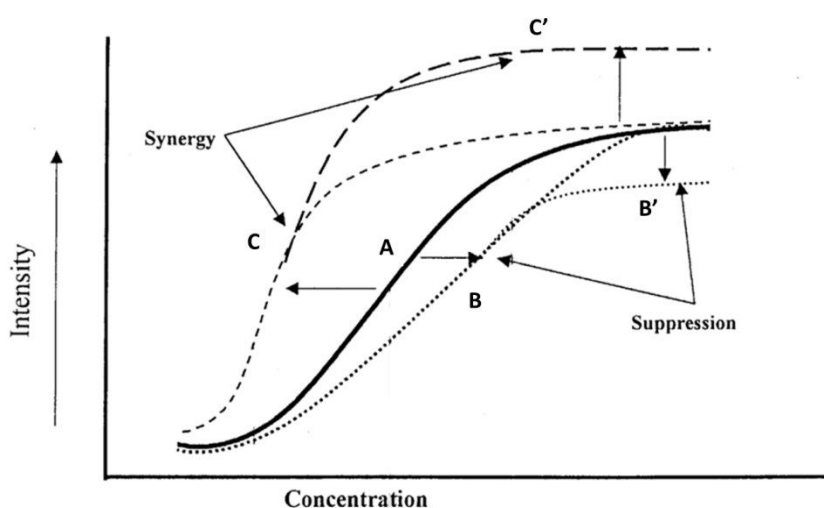


Figure 8 : Visualisation d'interactions sur la courbe psychophysique (d'après Keast and Breslin, 2003)

A partir de ces conclusions montrant que les interactions dépendent des matrices étudiées et des concentrations mises en œuvre, il convient, dans le cadre de ce manuscrit, de focaliser notre attention sur les travaux dédiés au cidre. La littérature sur les interactions saveurs-saveurs dans cette matrice est peu abondante. Seuls Lea et Arnold (1978) ont publié une recherche sur ce sujet. Mais ces auteurs n'ont étudié que l'effet de quelques interactions sur l'amertume et l'astringence. Une matrice proche (solution hydroalcoolique contenant des polyphénols, du sucre et de l'acide) est beaucoup plus étudiée : le vin. Nous nous intéresserons donc aux travaux mentionnant l'impact des différents composés chimiques (sucres, acide, polyphénols, alcool, CO₂ et composés volatils aromatiques) sur le goût sucré, l'acide, l'amer et l'astringence prioritairement dans le cidre et le vin

mais avec également des références aux interactions en solutions aqueuse ou hydroalcoolique. En effet, le comportement des composés chimiques en solution aqueuse permet de comprendre les interactions dans des milieux plus complexes (Keast and Breslin, 2003).

2.2.2.1 La modulation du sucré

Logiquement, les composés sucrés (sucrose, fructose...) sont à l'origine du goût sucré (Zamora et al., 2006, Calviño et al., 1993, Le Calvé et al., 2008). De ce fait, une augmentation par exemple du sucrose dans une matrice hydroalcoolique comme du vermouth (16% Vol) amène une augmentation de la saveur sucrée (Burns and Noble, 1985) mais cela est une évidence.

La perception du goût sucré est par ailleurs modulée par la présence d'autres composés chimiques. De nombreux travaux identifient le rôle des composés acides et amers dans la diminution de l'intensité sucrée (Keast and Breslin, 2003). Le goût sucré diminue donc avec l'augmentation de l'acidité (Pelletier et al., 2004, Zamora et al., 2006, Le Calvé et al., 2008) et de l'amertume (Calviño et al., 1993). Par contre, il est la caractéristique sensorielle la moins sensible aux effets de suppression en présence d'autres composés chimiques, notamment dans des solutions aqueuses avec du sucrose et des composés amers (hydrochlorure de quinine, caféine) ou acides (acide citrique) (Green et al., 2010b, Calviño et al., 1993). Il faut ajouter une assez forte concentration de composés amers et acides pour diminuer le goût sucré.

Cet effet supprimeur est d'autant plus complexe à analyser qu'il est fonction de la concentration des différents composés. Dans leur revue, Keast et Breslin (2003) indiquent qu'à faibles concentrations en sucre et en acide ou composés amers, l'impact de ces derniers sur le goût sucré est variable. En revanche, pour des concentrations intermédiaires, si l'effet de l'acidité sur le goût sucré n'est pas toujours présent, l'amertume a un impact supprimeur significatif. La perception sucrée peut également dépendre de l'acidité initiale du milieu. En effet, dans des solutions dominées par l'acidité (pH =3) avec un taux de fructose peu élevé (de 2 et 7 g/L), l'acidité masque le caractère sucré. Le goût sucré des échantillons est perçu peu intense et les dégustateurs ne perçoivent pas cette différence de 5 g/L de fructose (Zamora et al., 2006).

Dans les composés amers et astringents, l'impact des polyphénols sur la saveur sucrée est très peu étudié. La plupart des auteurs se concentrent essentiellement sur l'impact des polyphénols sur la perception de l'amertume et de l'astringence, oubliant de ce fait leur possible influence sur les autres

sensations. Contrairement à Lyman et Green (1990) qui montrent une réduction du sucré (160 g/L de sucrose en présence d' 1 g/L acide tannique), Ishikawa et Noble (1995) n'ont pas observé d'impact significatif des polyphénols sur le goût sucré de solutions modèles de vin. Mais ces auteurs attribuent cette absence de diminution du sucré à une concentration de polyphénols pas assez importante pour observer un effet de suppression.

L'éthanol peut également augmenter la perception sucrée. Il comporte intrinsèquement une composante sucrée qui renforce cette caractéristique dans les solutions (Scinska et al., 2000). Par contre, il apparaît que cette augmentation n'est significative que pour des taux d'alcool peu élevés et qu'elle dépend de la concentration en sucre et en acide du milieu étudié. Ainsi Martin et Pangborn (1970) ont observé cette augmentation du goût sucré pour des concentrations de 4 et 8%Vol. mais pas au-delà. Par ailleurs, le goût sucré de solutions contenant de 0.1 g/L d'hydrochlorure de quinine, 100 et 180 g/L de sucrose n'a pas évolué en présence d'éthanol de 8 à 32%Vol. (Panovska et al., 2008). Zamora et al. (2006) ont, pour leur part, identifié des augmentations du sucré par l'éthanol pour les échantillons à pH = 3,8, mais pas à pH=3, et cet effet était plus sensible pour les échantillons contenant 7 g/L de fructose par rapport à ceux contenant seulement 2 g/L.

Au-delà des interactions saveurs-saveurs qui peuvent modifier le goût sucré, la littérature présente des interactions arômes-saveurs. Le profil des composés volatils peut influencer la perception des saveurs. L'exemple qui a été le plus étudié est celui de la congruence entre les notes « fruitées » et le goût sucré, le plus souvent en milieu modèle. Ainsi, la présence des telles notes aromatiques qui sont associées par les consommateurs à des produits plus sucrés, conduit à une augmentation de la saveur sucrée (Labbe et al., 2006, Murphy and Cain, 1980, Frank and Byram, 1988, Lavin and Lawless, 1998, Stevenson et al., 1999, Djordjevic et al., 2004, Le Calvé et al., 2008, Prescott, 1999). Les notes de « caramel » ont également un impact positif sur la perception du sucré (Stevenson et al., 1999). À l'inverse, certaines odeurs identifiées comme ne véhiculant pas une impression sucrée (huile essentielle d'angélique et la damascone), ont conduit à une diminution de la perception sucrée des solutions de sucrose (Stevenson et al., 1999).

Enfin, la présence de CO₂ dans les produits peut également modifier la perception du sucré. Pour la plupart des auteurs, la carbonatation conduit à une diminution du sucré dans les solutions (Cowart, 1998, Passe et al., 1997, Hewson et al., 2009, Saint-Eve et al., 2010, Le Calvé et al., 2008, Thuillier, 2007, Clark et al., 2011). Mais cela peut dépendre de la concentration en sucre dans le milieu étudié. Par exemple, Thuillier (2007) observe un impact du CO₂ sur le goût sucré uniquement pour 18 g/L de

saccharose, mais pas pour 9 ni à 36 g/L. De même, Cometto-Muniz et al. (1987) observent des résultats contradictoires en fonction des concentrations en CO₂ et en sucre.

2.2.2.2 La modulation de l'acide

La perception de l'acidité se construit en lien avec la présence d'ions H⁺ à proximité des bourgeons du goût. Aussi une diminution du pH ou l'augmentation de la quantité d'acide organique conduisent à une augmentation de l'acidité perçue (Zamora et al., 2006, Fischer and Noble, 1994, Sowalsky and Noble, 1998).

La présence de CO₂ dissout dans les boissons et l'intervention de l'anhydrase carbonique produit de l'acide carbonique et des protons H⁺. Cela conduit à une augmentation de l'acidité perçue en lien de la diminution du pH provoqué par cette réaction chimique (Cowart, 1998, Hewson et al., 2009, Saint-Eve et al., 2010, Le Calvé et al., 2008, Thuillier, 2007, Cometto-Muniz et al., 1987). D'ailleurs, la présence de CO₂ dans la solution, mais en maintenant le pH au niveau initial, n'entraîne pas l'augmentation de l'acidité perçue (Saint-Eve et al., 2010). Cependant, cette augmentation semble n'être significative qu'au-delà d'un certain volume de CO₂ dissous (> 2 Vol.) puisque les travaux avec des concentrations plus faibles ne conduisent pas aux mêmes conclusions (Lederer et al., 1991). Par ailleurs, il apparaît qu'à forte concentration d'acide organique, l'impact du CO₂ sur l'acidité perçue est moins marqué (Thuillier, 2007). Cet auteur mentionne que *le CO₂ semblerait rapprocher les vins extrêmes sur la quantité d'acidité perçue.*

L'acidité est toujours diminuée par la présence de sucre (Pelletier et al., 2004, Zamora et al., 2006, Hewson et al., 2009, Le Calvé et al., 2008). D'ailleurs, Green et al. (2010) ont montré que la présence de sucre est l'élément le plus supprimeur des autres sensations dont l'acidité. Par contre, cette diminution peut être plus ou moins forte en fonction de l'acidité de la solution étudiée. Des solutions aqueuses à pH = 3 n'ont pas vu leur acidité modifiée lors de l'ajout de 2 g/L à 7 g/L de fructose. Alors que les mêmes concentrations de fructose ont conduit à une diminution de l'acidité perçue à un pH de 3.8 (Zamora et al., 2006).

L'éthanol semble également modifier la perception acide des solutions. Des diminutions de l'acidité perçue ont été observées dans des solutions contenant de l'acide citrique et de l'éthanol. Cette diminution était très marquée pour les fortes concentrations d'alcool (12 et 24 %Vol.) et moins importante à 4%Vol. (Martin and Pangborn, 1970). Mais d'autres auteurs (Fischer and Noble, 1994,

Zamora et al., 2006) n'ont pas observé de modification de l'acidité par l'ajout d'alcool, voire même, ils ont observé un renforcement de celle-ci quand dans une solution à pH= 3.8 avec 2 g/L de fructose, la quantité d'éthanol passait de 4% à 12% (Zamora et al., 2006).

L'augmentation de l'amertume donne des résultats contradictoires pour l'acidité. Une concentration intermédiaire de composés amers augmenterait l'acidité quand des concentrations plus importantes auraient tendance à la diminuer (Keast and Breslin, 2003). Mais pour Green et al. (2010) et Fischer et al. (1994), la présence de sulfate de quinine pour les premiers et l'addition de 100mg à 1500 mg/L de catéchine n'a pas eu d'impact sur l'acidité des solutions dégustées.

La composante aromatique peut également modifier la perception de l'acidité. Les notes de « caramel » mentionnées précédemment ont certes modifié la perception du sucré mais également diminué la perception acide dans des solutions aqueuses d'acide citrique à 1,44 g/L (Stevenson et al., 1999). Une note « citronnée » peut renforcer l'acidité perçue (Valentin et al., 2006, Le Calvé et al., 2008).

2.2.2.3 La modulation de l'amertume

Comme nous l'avons mentionné dans la partie sur la composition chimique du cidre, les composés principalement responsables de l'amertume du cidre sont les polyphénols et parmi ceux-ci, les procyanidines. Les travaux de Lea & Arnold (1978) sur le cidre montrent que l'amertume dépend à la fois de la concentration en procyanidines mais également du profil de ceux-ci. Ils ont observé que les procyanidines tétramères du cidre présentaient une amertume plus forte que les autres procyanidines. Ce résultat n'a jamais été confirmé depuis, malgré les limites expérimentales de l'extraction et de la purification utilisées à cette époque.

Dans le vin, la concentration en polyphénols (et plus précisément en proanthocyanidines) a de nombreuses fois été mise en avant comme source d'amertume (Robichaud and Noble, 1990, Vidal et al., 2004b, Vidal et al., 2004a). Mais l'impact du degré de polymérisation ne semble pas en accord avec les résultats de Lea et al. (1978). En effet, les monomères ont été perçus plus amers que les dimères composés d'unités (+)-catéchine, eux-mêmes plus amers que les trimères. Les degrés de polymérisations supérieures n'ont pas été testés (Peleg et al., 1999, Lesschaeve and Noble, 2005). Il apparaît qu'au-delà de la taille des oligomères de procyanidine, la conformation des molécules module également la perception de l'amertume. Cela se confirme d'ailleurs au niveau des

monomères pour lesquels la comparaison entre les énantiomères (+)-catéchine et (-)-épicatéchine en solution modèle montre une amertume plus forte aux mêmes concentrations pour l'(-)-épicatéchine (Thorngate and Noble, 1995, Kallithraka et al., 1997a).

Le seuil de perception et de différenciation des procyanidines doit être également pris en compte pour pouvoir observer des différences d'amertume. Aussi dans les travaux d'Arnold et Noble (1978a) l'absence de différence d'amertume entre plusieurs concentrations de polyphénols s'explique par la plage de concentration étudiée qui allait seulement de 25 à 135 mg/L. De la même manière, Robichaud et al. (1990) ne voient pas de différence d'amertume entre des extraits de procyanidines ajoutés dans des solutions entre 10mg et 150 mg/L .

Concernant les interactions des composés amers avec d'autres molécules chimiques, il est intéressant de regarder le comportement des molécules autres que les polyphénols.

De nombreux travaux montrent que l'amertume est significativement réduite par la présence de sucrose en solution aqueuse (Keast and Breslin, 2003, Calviño et al., 1993, Lyman and Green, 1990, Keast, 2008, Hewson et al., 2009) ou hydroalcoolique (Burns and Noble, 1985, Panovska et al., 2008). Dans le cidre, Lea et Arnold (1978) ont observé une diminution de l'amertume lors du passage de 16 à 26 g/L de sucre dans une solution contenant 4g de tanins de cidre, 5%Vol. d'éthanol.

En revanche le rôle de l'acidité sur l'amertume est moins clair. Dans certains cas, il aurait un effet inhibiteur (Keast and Breslin, 2003, Sun-Waterhouse and Wadhwa, 2013), dans d'autres, l'acidité n'a pas d'impact sur l'amertume (Green et al., 2010a). Breslin (1996) conclut d'ailleurs sa revue en indiquant que cela dépend des stimuli, des concentrations et des conditions expérimentales. Dans les solutions modèles testées par Lea et al. (1978) contenant des tanins, du sucre, de l'alcool, l'augmentation du pH de 3,5 à 4 n'a conduit à aucune différence d'amertume. De même, dans des solutions modèles proches du vin, des augmentations du pH entre 3,2 et 3,8 (Fischer and Noble, 1994) et entre 2,5 et 4,0 (Fontoin et al., 2008) n'ont pas eu d'impact sur l'amertume. Enfin, le type d'acide organique utilisé (acide malique ou lactique) n'a pas eu d'impact sur la perception de l'amertume (Kallithraka et al., 1997c). Aussi, dans le contexte d'une matrice hydroalcoolique proche du cidre, il semble que l'impact de l'acidité sur l'amertume soit mineur.

L'éthanol quant à lui renforce l'amertume des composés amers (Martin and Pangborn, 1970, Panovska et al., 2008, Fischer and Noble, 1994, Noble, 1998, Vidal et al., 2004a) et notamment dans le cidre (Lea and Arnold, 1978). Cela peut s'expliquer par le fait que l'alcool est un composé amer en

soi (Scinska et al., 2000, Mattes and DiMeglio, 2001). Cependant, il semble qu'à nouveau l'impact de l'éthanol est fonction des concentrations des différentes molécules dans les solutions. En effet, dans une solution modèle contenant des procyanidines oligomères issus de pépins de raisin (2 g/L) et un pH de 3,5, l'amertume n'a augmenté en présence d'éthanol qu'à partir de 11%Vol. (Fontoin et al., 2008). Mais à l'inverse, la présence d'une forte concentration d'alcool peut masquer des nuances d'amertume apportées par les polyphénols (Vidal et al., 2004b).

Les arômes peuvent moduler la perception de l'amertume mais peu de travaux se sont penchés sur ce sujet (Gaudette and Pickering, 2013). Les arômes de cacao, de café augmentent la perception de l'amertume (Labbe et al., 2006, Keast, 2008) mais cela est bien loin de nos cidres. Par contre l'ajout d'un extrait de composés volatils issus d'un vin blanc « fruités » dans des vins rouges a conduit à une légère diminution de l'amertume (Sáenz-Navajas et al., 2012). Mais cette diminution d'amertume par des notes aromatiques congruentes avec le goût sucré ne fonctionne pas dans tous les cas. En effet, Labbe et al (2006) n'ont pas observé de diminution du goût amer dans une boisson chocolatée, ni dans une matrice contenant du lait et de la caféine induite par la présence d'une note aromatique de vanille qui est pourtant associée à une composante « sucrée ».

Le CO₂ semble enfin avoir un rôle partagé dans la perception de l'amertume. Pour certains auteurs, la présence de gaz carbonique n'a pas d'impact sur l'amertume apportée par le sulfate de quinine (Cowart, 1998). Cependant, Hewson et al (2009) ont identifié un arrière-goût amer véhiculé uniquement par le CO₂ dans des solutions contenant du fructose (ou glucose), de l'acide citrique mais pas de composés amers. Thuillier (2007) a observé une diminution de l'amertume due au sulfate de quinine par la présence de CO₂ mais pas d'impact significatif quand l'amertume était apportée par des tanins. Clark et al (2011) ont, pour leur part, identifié une diminution de l'amertume d'acides de houblon par le CO₂ mais seulement pour des quantités supérieures à 300 µL/L. Finalement, dans ce cas encore, il semble que l'impact du CO₂ dépend des concentrations à la fois de CO₂ et de composés amers mis en œuvre. À faible concentration de sulfate de quinine, l'amertume est renforcée par le CO₂, alors que, à concentration élevée, elle est réduite par la présence d'oxyde de carbone (Cometto-Muniz et al., 1987).

2.2.2.4 La modulation de l'astringence

Ce sont les polyphénols qui contribuent principalement à l'apparition de l'astringence dans les produits comme le cidre, de même que le vin et le thé (Ishikawa and Noble, 1995, Lyman and Green,

1990, Valentová et al., 2002). L'astringence augmente donc à mesure que la concentration en procyanidines augmente (Lea and Arnold, 1978, Breslin, 1996, Vidal et al., 2004a, Robichaud and Noble, 1990) mais aussi en fonction du degré de polymérisation de ces molécules (Brossaud et al., 2001, Arnold et al., 1980, Robichaud and Noble, 1990) (Sun et al., 2013). Ainsi, les polymères sont plus astringents que les oligomères et l'astringence est fonction du degré moyen de polymérisation des procyanidines (Lea and Arnold, 1978, Lesschaeve and Noble, 2005).

Mais en plus des composés phénoliques, les acides organiques comme l'acide lactique et l'acide malique ont été également décrits avec une composante astringente (Kallithraka et al., 1997c, Lee and Lawless, 1991). Aussi, l'augmentation de la concentration en acide organique peut conduire à une augmentation de l'astringence.

L'astringence peut être renforcée par une diminution du pH (François et al., 2006, Fontoin et al., 2008) mais cela dépend du pH des solutions ; ainsi Lea et al. (1978) n'observent pas d'augmentation de l'astringence en diminuant le pH de 4 à 3,5 dans une solution contenant 4 g/L de polyphénols. De même, Fontoin et al. (2008), qui globalement observent une augmentation de l'astringence avec la diminution du pH, reconnaissent que celle-ci n'est pas significative pour les pH de 3,5 à 4. Il semble finalement que c'est prioritairement le pH qui module l'astringence et pas la concentration en acide organique. En effet, plusieurs auteurs ont montré que l'ajout d'acide malique, lactique ou tartrique ne modifie pas l'astringence si le pH est maintenu constant (Fontoin et al., 2008, Kallithraka et al., 1997c).

En lien avec le pH, la carbonatation des solutions conduit à une augmentation de l'astringence perçue lorsque le produit est en bouche mais également après déglutition (Hewson et al., 2009, Thuillier, 2007).

Mais cette sensation peut être également modulée par la présence d'autres composés. Ainsi, les sucres peuvent avoir un rôle suppresseur de l'astringence attribuée à une augmentation de la viscosité du milieu (Lyman and Green, 1990, Ishikawa and Noble, 1995, Valentová et al., 2002). Cependant dans la matrice cidre simulée par Lea et al. (1978), l'augmentation de 10 g de sucre n'a pas modifié l'astringence perçue apportée par les 4 g/L d'extraits de tanins de cidre. On peut noter que la concentration en tanins mise en solution était particulièrement élevée ce qui a peut-être généré une saturation des dégustateurs qui ont trouvé les deux échantillons extrêmement astringents.

Par contre, le rôle de l'éthanol sur la perception de l'astringence n'est pas très bien défini. Anne Noble (1998) et Valentova et al. (2002) ont observé un impact très modéré de l'éthanol sur l'astringence. En revanche, Fontoin et al (2008) et Vidal et al (2004a) ont observé une diminution assez marquée de l'astringence à mesure que la concentration en alcool augmente.

La composante aromatique peut encore intervenir dans l'expression de l'astringence. Des récents travaux ont montré que la présence de certains composés volatils, responsables de notes fruitées, cuir et fumées dans une solution de flavanols augmentait les caractéristiques en lien avec l'astringence (Ferrer-Gallego et al., 2014). À l'inverse, une fraction aromatique « fruitée » ajoutée à des vins reconstitués a montré une diminution de l'astringence (Sáenz-Navajas et al., 2012).

En résumé

La perception du sucré, de l'acide, de l'amer et de l'astringence dans les produits alimentaires et plus particulièrement dans le cidre est le résultat de l'action des molécules composant la matrice sur différents récepteurs sensoriels situés dans la bouche. La revue de la littérature montre que les principaux mécanismes de la physiologie du goût sont connus mais que de nombreuses questions demeurent posées. C'est notamment le cas de l'amertume pour laquelle une famille de récepteurs comptant 25 protéines T2R est identifiée. Cependant, les connaissances sur les affinités récepteur-ligand sont, à ce jour, limitées à des molécules de petites tailles et l'on ne dispose pas d'informations sur le comportement de molécules plus grandes comme les oligomères et polymères de procyanidine qui sont présents dans le cidre.

La littérature montre également combien les interactions sensorielles sont déterminantes dans la perception sensorielle d'un produit. Ces interactions jouent au niveau chimique et physiologique mais aussi au niveau cognitif avec le rôle des arômes sur la perception des saveurs. Il apparaît que chaque caractéristique sensorielle (goût sucré, acide, amer, astringence) se construit logiquement en lien avec des composés principaux (respectivement les sucres, les acides, les composés amers et astringents) mais que de fortes interactions prennent place dans la matrice entre tous les composés. Aussi, la prédiction des caractéristiques organoleptiques d'un produit doit intégrer l'ensemble des principales molécules présentes dans la matrice.

Ces interactions sont fortement dépendantes des concentrations de chaque composé chimique. De ce fait, la généralisation des résultats d'une matrice à une autre matrice est difficile. L'étude des interactions doit se faire dans les bornes de l'espace produit étudié.

Enfin, il ressort de cette revue de la littérature que le cidre est un produit très peu étudié et que les travaux de 1978, menés par Lea et Arnold, dans les conditions expérimentales de l'époque, méritent d'être revisités et approfondis pour avoir une meilleure connaissance de la construction des caractéristiques organoleptiques des cidres.

Partie II. Problématique et démarche expérimentale



1.1. Problématique et hypothèses de travail

Le cidre est donc une matrice hydroalcoolique dont les concentrations en sucres, acide, éthanol, polyphénols et composés volatils varient par le choix des variétés, par les itinéraires techniques et les conditions de cidrification, par les assemblages de cuves, par les choix de prise de mousse...

Certes, les cidriers maîtrisent empiriquement l'influence de leurs pratiques sur les caractéristiques organoleptiques des produits, mais ils ne disposent pas d'outils permettant de manière plus rigoureuse et objective de faire le lien entre la composition chimique des cidres et leurs caractéristiques organoleptiques, et de comprendre l'ensemble des interactions qui se produisent au cœur de cette matrice.

Les travaux scientifiques faisant état des impacts des différentes opérations cidricoles sur les caractéristiques sensorielles sont peu nombreux. Le plus souvent, ils étudient les modifications des caractéristiques chimiques, sans intégrer la composante organoleptique. Qui plus est, dans les travaux qui se concentrent sur la composition des cidres, seules l'amertume et l'astringence sont évaluées alors que la qualité organoleptique des cidres repose sur l'équilibre des saveurs sucrées, acides, amères et de l'astringence.

La littérature montre combien la perception sensorielle est un processus complexe qui débute par la stimulation de différents récepteurs sensoriels et de voies de transduction spécifiques de chaque composé ; ces derniers génèrent des influx nerveux qui vont remonter dans le cerveau pour être intégrés et produire les perceptions sensorielles. La construction des sensations en bouche est le résultat de la présence de chaque composé chimique individuellement mais également de l'interaction avec les autres composées et de la structure des assemblages moléculaires formés dans le milieu. Elle est également la conséquence d'interactions cognitives qui modulent la perception sensorielle.

Certes, la littérature regorge d'articles scientifiques relatifs à ces interactions chimiques, physiologiques et cognitives. Mais la grande variabilité des effets mesurés due à la complexité des matrices étudiées, aux stimuli et aux concentrations mises en œuvre limite la possibilité de

généraliser les conclusions. Les interactions doivent alors être analysées en tenant compte des spécificités (types de molécules et concentrations) de chaque matrice.

Aussi, les verrous scientifiques identifiés se situent au niveau du rôle de la matrice cidricole sur la perception sensorielle du cidre et sur les interactions qui se jouent au sein de cette matrice lors de la consommation du cidre.

La problématique de cette thèse cherche à identifier : **Dans quelle mesure les principaux composés chimiques du cidre (procyanidine, sucre, acide, éthanol, arôme et CO₂) influencent (directement ou *via* des interactions) les caractéristiques organoleptiques des cidres ?**

Pour y répondre, nous avons choisi de vérifier les hypothèses ci-après.

1°) La composition en procyanidines est connue pour être un des facteurs modulant de manière importante l'amertume et l'astringence des cidres. La présence d'interactions saveurs-saveurs au sein de la matrice conduit également à un effet de ces procyanidines sur le goût sucré et sur l'acidité perçue. (Partie III – Chapitre 1)

2°) Au-delà de leur concentration, la taille des procyanidines, à savoir leur degré de polymérisation, modifie les caractéristiques organoleptiques des cidres. Lea et al (1978) ont identifié de manière informelle une amertume plus marquée pour les tétramères de procyanidines issus de pommes, une astringence plus forte pour les DP élevés. Notre hypothèse est que ces spécificités se confirment en dégustant plusieurs concentrations de procyanidines purifiés permettant d'étudier l'influence sur les caractéristiques organoleptiques de chaque DP pris séparément dans une solution modèle peu concentrée en acide, sucre et alcool, mais également lorsque l'on complexifie la matrice en faisant varier les concentrations de ces trois paramètres.(Partie III – Chapitre 1).

3°) Plus largement, chaque composé (procyanidines, fructose, acide et éthanol) participe à des niveaux plus ou moins important aux caractéristiques sensorielles des cidres. Il est possible de pondérer l'influence de chacun de ces composés et de leurs interactions sur le goût sucré, l'acidité perçue, l'amertume et l'astringence (Partie III – Chapitre 1).

4°) L'ajout de dioxyde de carbone modifie sensiblement les caractéristiques sensorielles des solutions modèles étudiées mais sans pour autant modifier l'influence de l'alcool, du sucre, de l'acide et des

procyanidines sur les caractéristiques organoleptiques observées précédemment. (Partie III – Chapitre 2)

5°) Enfin, la composante aromatique des cidres ne peut être négligée. La perception des saveurs et de l'astringence peut être modifiée en fonction du profil aromatique des cidres. (Partie III – Chapitre 3)

Les trois premières hypothèses ont été testées dans des solutions modèles contenant des procyanidines purifiés, du fructose, de l'acide malique et de l'éthanol sans gaz car nous craignons que celui-ci ne masque la perception de certaines nuances sensorielles. Puis nous avons testé, l'impact du CO₂ sur la perception des caractéristiques organoleptiques de ces solutions modèles. Enfin, le rôle des arômes sur les saveurs et l'astringence a été étudié dans des cidres commerciaux.

1.2. Démarche expérimentale

Avant de présenter la démarche expérimentale mise en œuvre, il est important de souligner, d'une part, l'utilisation de procyanidines purifiées et, d'autre part, le recours à un panel entraîné à l'évaluation sensorielle.

1.2.1 Des procyanidines purifiés

Une partie des travaux de recherche étant basée sur l'impact du degré de polymérisation des procyanidines sur la perception sensorielle, l'obtention de procyanidines purifiés a fait l'objet d'un travail de l'unité INRA BIA – équipe PRP et de l'IFPC en amont de la thèse. La dégustation de ces fractions polyphénoliques a, en effet, contraint à la recherche d'un moyen de purification conforme aux normes d'alimentarité du *Codex Alimentarius* et des directives européennes quant à l'utilisation de solvant (Pöttering and Necas, 2009).

La solution technique retenue (présentée plus loin Partie III – 1.1.2.1) permet de garantir cette alimentarité mais présente l'inconvénient d'un rendement peu élevé. Aussi, au début des travaux avec le panel entraîné, seuls 1 500 mg de chaque fraction des DP 2 à 10-11 étaient disponibles. Cette contrainte a été intégrée dans la démarche expérimentale.

1.2.2 Un panel entraîné à l'évaluation sensorielle

L'objectif du projet était d'étudier les interactions entre les composés chimiques sur les caractéristiques sensorielles du cidre. Nous avons par conséquent décidé d'utiliser le profil conventionnel réalisé par un panel entraîné comme outil de mesure de ces propriétés organoleptiques.

Le panel comptait 18 sujets qui ont été recrutés et sélectionnés au début du projet. Ils ont suivi un entraînement intensif pour la reconnaissance des quatre sensations étudiées dans le projet : sucré, acidité, amertume et astringence. Pour cela, l'entraînement se composait d'une alternance entre travail collectif et travail individuel. Il contenait la dégustation de solutions modèles (polyphénols Pommactiv, Val de Vire) et de produits du commerce (Cidre, Campari, Schweppes, Jus de Cranberry...) avec des ajouts dosés de fructose, acide malique, éthanol et polyphénols.

Les performances sensorielles du panel (discrimination, répétabilité et accord) ont été évaluées plusieurs fois au cours de la formation du panel avec des solutions modèles présentées dans des concentrations similaires aux échantillons évalués dans les plans d'expériences du projet. Des pools polyphénoliques commerciaux ont été alors utilisés étant donné la faible quantité disponible de procyanidines purifiés. Ces performances ont été jugées satisfaisantes. De ce fait, nous nous sommes autorisés à ne pas réaliser de répétition dans les plans d'expériences du projet, ce qui aurait été rendu difficile du fait de la faible quantité de procyanidines.

1.2.3 Une démarche pas à pas basée sur l'utilisation de plans d'expériences

La planification expérimentale permet d'étudier les effets directs et les interactions entre les différents facteurs étudiés. Nous avons choisi de réaliser plusieurs plans d'expériences permettant de répondre à nos différentes hypothèses de travail. En fonction des quantités de procyanidines et du nombre de séances de dégustations disponibles, nous avons sélectionné les types de plan d'expériences les plus adaptés.

Pour commencer, nous avons étudié l'impact du degré de polymérisation (DP) et de la concentration en procyanidines sur les quatre variables sensorielles en utilisant un plan complet à trois niveaux de concentration en procyanidines et quatre fractions de procyanidines purifiés correspondant à quatre DP différents. Craignant que la composition de la solution modèle puisse masquer les effets des

procyanidines notamment par un goût sucré trop marqué, nous avons choisi de travailler dans une solution modèle hydroalcoolique avec des concentrations « minimales », aux bornes inférieures de l'espace chimique des cidres. (Partie III – 1.1)

Puis, nous avons étudié, par un plan d'expériences demi-fractionnaire, l'impact du degré de polymérisation en interaction avec le fructose, l'acide malique (le pH) et l'éthanol. Le choix de ce plan d'expériences a été dicté par les contraintes déjà mentionnées de la quantité de procyanidines disponible. Ce plan a été construit pour analyser correctement l'impact du DP (quatre niveaux) et les interactions avec les trois autres composés chimiques mis en solution à deux concentrations. (Partie III – 1.2)

Les deux plans d'expériences précédents permettaient d'étudier prioritairement l'impact du degré de polymérisation des procyanidines sur les quatre variables sensorielles évaluées. Ces plans ne permettaient pas d'étudier, de manière complète et simultanée, l'impact de la concentration en procyanidines, du fructose, de l'acide malique (du pH), de l'éthanol ainsi que les effets quadratiques et les interactions entre ces composés sur la perception du goût sucré, de l'acidité, de l'amertume et de l'astringence. Un troisième plan d'expériences constitué de deux plans composites centrés a donc été construit pour cela. Ces deux sous-plans, qui étaient évalués simultanément, différaient par le profil de procyanidines mis en solution. Ceci permettait d'introduire l'impact du degré de polymérisation moyen des procyanidine dans cette étude. (Partie III – 1.3).

Les trois plans d'expériences précédents ont été construits dans des solutions modèles sans ajout de CO₂. Un quatrième plan d'expériences demi-fractionnaire a été élaboré pour étudier l'interaction « CO₂-saveur » : impact du dioxyde de carbone (absence vs présence) dans des solutions modèles contenant deux niveaux de fructose, d'acide malique (pH) et d'éthanol et quatre concentrations de polyphénols commerciaux. La construction du plan a été réfléchi pour étudier précisément l'impact du CO₂ et ses interactions avec les quatre autres facteurs. Ces résultats sont présentés dans le chapitre 2 de la partie III.

Finalement, pour étudier l'impact des arômes sur le goût sucré, l'acidité perçue, l'amertume et l'astringence, une sélection de 16 cidres chimiquement et sensoriellement très différents a été réalisée sur dire d'experts. Ces cidres ont été dégustés suivant trois conditions expérimentales pour évaluer l'existence d'interactions « arômes-saveurs » d'origine cognitive. D'une part, les quatre attributs (sucré, acide, amer et astringent) ont été évalués dans les 16 cidres dégustés avec et sans

pince-nez pour identifier la possible présence d'un effet de congruence. Puis, les dégustateurs ont évalué, sans pince-nez, ces quatre attributs complétés d'une liste de sept descripteurs aromatiques pour s'assurer que l'évaluation de seulement quatre attributs gustatifs ne souffrait pas d'un effet de « halo-dumping » généré par l'absence d'attributs aromatiques. Ces résultats font l'objet du chapitre 3 de la partie III.

Partie III. Résultats et discussions



Chapitre 1. **Sur l'impact des procyanidines en relation avec les autres composés sapides (sucres, acide et alcool)**

Les procyanidines sont les principaux composés polyphénoliques présents dans les cidres. Les travaux de Lea et Arnold (1978) se sont concentrés sur leur rôle sur l'amertume et l'astringence sans intégrer le goût sucré et l'acidité qui, pourtant, de par la composition chimique des cidres, sont des caractéristiques organoleptiques très importantes pour la qualité des produits. Lea et Arnold (1978) ont identifié un comportement particulier des tétramères qui lors d'une dégustation informelle d'une fraction purifiée ont montré une plus forte amertume, résultat qui n'a jamais été observé depuis malgré les progrès analytiques et en purification.

Par ailleurs, nous avons vu dans la littérature combien la composition chimique de la matrice importe dans la construction des interactions. Or, très peu de travaux ont étudié les interactions entre les composés sapides dans le cidre en intégrant le sucre, l'acide, l'éthanol et les polyphénols.

Ce premier chapitre des résultats s'intéresse à l'ensemble de ces interactions avec un focus plus particulier sur le rôle du degré de polymérisation des procyanidines. Pour cela, des fractions purifiées de procyanidines ont été obtenues et permettent d'étudier précisément l'impact de procyanidines avec des degrés de polymérisation maîtrisés.

1.1. Impact du degré de polymérisation et de la concentration en procyanidines sur les caractéristiques sensorielles

L'objectif de cette première étude est d'évaluer l'influence de la concentration et du degré de polymérisation d'extraits purifiés de procyanidines avec un degré de polymérisation contrôlée. Une solution aqueuse contenant, en faibles quantités, de l'éthanol, du sucre (fructose), de l'acide (acide malique tamponné avec de la potasse) a été élaborée. Les caractéristiques de cette matrice doivent permettre à la fois d'étudier l'impact des procyanidines sur le goût sucré, l'acidité l'amertume et l'astringence mais en évitant de masquer certaines sensations par la présence, par exemple, d'une quantité trop importante de sucre.

LWT - Food Science and Technology 57 (2014) 22–27



Contents lists available at ScienceDirect

LWT - Food Science and Technology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/lwt



Impact of apple procyanidins on sensory perception in model cider (part 1): Polymerisation degree and concentration



R. Symoneaux^{a,*}, A. Baron^b, N. Marnet^b, R. Bauduin^c, S. Chollet^d

^a LUNAM Université, Groupe ESA, UPSP GRAPPE, 55, rue Rabelais, BP30748, F-49007 Angers Cedex 01, France

^b INRA, UR1268 BIA-Polyphenols, Reactivity, Processes, F-35650 Le Rheu, France

^c IFPC, Domaine de la Motte, F-35 650 Le Rheu, France

^d Université Catholique de Lille, Groupe ISA, 48 Boulevard Vauban, F-59046 Lille, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 25 January 2013

Received in revised form

6 November 2013

Accepted 12 November 2013

Keywords:

Bitterness

Astringency

Apple procyanidins

AverageDP

ABSTRACT

The impact of the degree of polymerization and of the concentration of procyanidins in a model solution of French cider was investigated. Four purified fractions of procyanidins at three concentrations were added in a solution containing water, ethanol, fructose and malic acid. The four studied sensory characteristics (bitterness, astringency, sweetness and sourness) were modified according to the concentration of procyanidins. The degree of polymerization (DP) of procyanidins influenced only bitterness and astringency but this impact was not the same for all concentrations. Despite the fact that pH, fructose and malic acid concentrations were the same in all samples, the perception of sweetness and sourness were modified according to the concentration of procyanidins.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1.1.1 Introduction

French cider is a slightly alcoholic and sweet drink obtained by slow and partial fermentation of the juice of specific apple varieties. Its main constituents are water, sugar (mainly fructose), organic acids, phenolic compounds and volatiles (Lea and Drilleau, 2003). Given this composition, bitterness and astringency have been important attributes to define French cider quality for a long time (Boutteville et al., 1875, Brugirard and Tavernier, 1952, Le Paulmier de Grantemesnil, 1589). In French ciders, apples used are well known for their high polyphenolic content being these compounds the main responsible for the two aforementioned sensory characteristics. In addition, processes (fermentation, fining...) modulate the composition of polyphenols compounds in cider impacting both on the global concentration and on the polyphenol profile (Guyot et al., 2003).

Procyanidins (or tanins) have been intensively described (Brossaud et al., 2001, Lea and Arnold, 1978, Noble, 1994, Peleg et al., 1999) as the polyphenols responsible both for astringency and bitterness in wine and cider. The main differences between the phenolic compounds in wines and ciders are the chain length and the nature of the constituent monomers of tanins. Generally, they are less polymerized in cider. The average degree of polymerisation (aDP) of the procyanidins in a selection of 90 ciders was found to be between 1.61 to 3.69 (Le Quéré et al., 2006), demonstrating that procyanidins in cider are smaller and in a shorter range than those of wine where aDP could range from 1.8 to 13 (Kassara and Kennedy, 2011, Monagas et al., 2003, Chira et al., 2011). These difference could be given by the fact that apple procyanidins are polymers of epicatechin with a few catechin as terminal units (Sanoner et al., 1999) whereas procyanidins from grape contain these monomers but some residues are galloylated from 13 to 29 % (Ricardo-da-Silva et al., 1991).

In wine, numerous works (Haslam, 1980, Maury et al., 2001, Peleg et al., 1999, Brossaud et al., 2001, Gawel, 1998, Kallithraka et al., 1997b, Vidal et al., 2004a, Vidal et al., 2003) present the impact of procyanidins concentration or composition on the two mentioned mouth sensations using wine model solutions or wines added with chemical monomers or polyphenol extracts from wines, grape seeds, or grape skin fractions. They showed that the higher the tanins concentration, the more bitter and astringent wines were. In addition, it was revealed that aDP has an impact on bitterness and astringency of wine: the higher the aDP, the more astringent the wine. On the contrary, it was shown (Peleg et al., 1999) that purified monomers of epicatechin and catechin were bitterer than their purified dimer and trimer without taking into account higher polymerisation degree. These results were mainly obtained in a wine model solution with alcohol content (from 11% Vol. to 15%) close to

those of wine's concentration. These results should not be generalized and applied to a product as cider with low alcoholic concentration since ethanol can interfere with astringency and bitterness.

It is to be noted that research reference on polyphenols in cider are scarce. Lea and Arnold (1978) worked on sensory perception of phenolics in cider finding that bitterness was associated with low aDP and they also observed that tetrameric flavan-3-ol was bitterer than others. The same authors found that astringency was well linked with polymeric procyanidins and increased with aDP. However they were not able to conclude if it was a bias due to the concentration of procyanidins since tasted ciders with higher aDP contained more procyanidins. Moreover, the separate influence of procyanidins composition and of their concentration on bitterness and astringency was not evaluated. Finally, no references could be found concerning the impact of procyanidins on the perceived sweetness and sourness of ciders in ciders.

The aim of the present work was to analyse the influence of the concentration and of the polymerisation degree of purified apples procyanidins extract with controlled degree of polymerisation in a cider-like model solution on four sensory characteristics: astringency, bitterness, sourness and sweetness.

1.1.2 Materials and Methods

1.1.2.1 Obtention of purified polyphenols

All procyanidins extracts used in this project had to be food grade quality in order to be tasted by consumers. For this reasons, the procedure developed for preparing purified polyphenols was selected using solvents allowed in *Codex Alimentarius* and by the European law (Pöttering and Necas, 2009).

Fifty kilograms of Binet Rouge cultivars apples were peeled and cut in small slices and placed in a 2 % formic acid bath to reduce polyphenoloxidase activity. Apple slices were then drained, stored at -25°C. They were then freeze-dried and were afterwards transformed into a fine powder used for polyphenol extraction. This process was done in two stages: 1) solvent extraction and 2) purification by liquid chromatography in order to separate oligomers with different polymerisation degrees.

1) For the solvent extraction 300 g apple powder was first mixed with 1.5 L of hexane to extract carotenoids. The obtained suspension was filtered and hexane was removed. The residual was mixed three times with 1.5 L of ethanol acidified with 0.5 % acetic acid. Each time, the residual was recovered and organic phases were collected. Then three extractions from the residual with 1.5 L of acidified water (2.5 % of acetic acid) and acetone (60/40 vol/vol) led to a fraction with a high amount of procyanidins oligomers. This fraction was concentrated under vacuum and then frozen at -20°C.

2) To purify this acetonic fraction, a reverse-phase C18 preparative column (Colonne prep C18 dimension 200 mm x 50 mm diametre ; phase : Lichrospher RP-18 (12 µM) Merk, Darmstadt, Germany) was used with a 40 mL/min flow. Adsorption on the inverse phase was done with acidified water (2.5 % acetic acid) followed by a 20min rinse at 40 mL/min with the same phase. Desorption was carried out by a 50 % Ethanol / 50 % Water acetic acid 2.5 %. Eluted components were collected, mixed, concentrated and freeze dried.

The purification of oligomers was done using a Diol preparative normal-phase column (Kelm et al., 2006). The flow was fixed at 40 mL / min and a gradient of two solvents was used : ethyl acetate with 2 % acetic acid (A) and ethanol 95 %, water 3 % and acetic acid 2 % (B). The gradient was 0 min 20 % B, 110 min 60 % B, 125 min 90 % B, 130 min 90 % B, 140 min 20 % A, 160 min 20 % A. Detection was provided by a fluorimeter (λ_{ex} 276 nm λ_{em} 350 nm 0-65 min , λ_{em} 316 nm 65-140 min). With this conditions and detection, eleven chromatographic peaks were clearly observed corresponding to the different oligomers from 2 to 12. Once identified, each purified fraction was collected separately, concentrated under reduced pressure at 30°C to remove the volatile eluents and freeze-dried. The fractions of polymerization degree selected for this experiment were: 3, 5, 7 (named F_DP3, F_DP5 and F_DP7) and a mix of 10, 11 and 12 since they were more difficult to separate. (named F_DP11).

1.1.2.2 Quality evaluation of obtained purified fractions

Each procyanidin fraction was analyzed in terms of polyphenol content and aDP. The first was done by the HPLC method described by Guyot, Marnet, Sanoner and Drilleau (1998) and the second was estimated by phloroglucinolyse (Kennedy and Jones, 2001).

Also, to check the dispersion by mass of the procyanidins, the lyophilized fractions (approximately 4 mg) were dissolved in 1 mL of acetonitrile 98 %, acetic acid 2 % and they were analyzed by HPLC according to Kelm et al. (2006). Chromatograms observed at 280 nm were integrated and

quantification was possible thanks to previously obtained calibration curves from high purified procyanidin dimer B2, the most abundant isomer in apple.

1.1.2.3 Cider Model Solution and Experimental Design

To evaluate the sensory impact of the degree of polymerisation and concentration of procyanidins a cider model solution done with a water solution of ethanol, fructose and malic acid (being these the main sugar and acid in cider). The concentrations were selected aiming to obtain a low sweetness, low sourness and low alcohol model solution of cider. A large database on cider composition (90 ciders) was used as reference (Le Quéré et al., 2006) to define each component concentration. The obtained model solution composition was 1.76%Vol. of ethanol, 8.3g/L of fructose and 1.52 g/L of malic acid. The highest pH in this database was 4.12, so KOH was used as a buffer to obtain this pH since potassium is an important mineral component in cider.

In the mentioned database (Le Quéré et al., 2006), the maximum content of procyanidins was 1434 mg/L, nevertheless only few ciders presented such amount of procyanidins. Therefore, a maximum concentration of 750mg/L was selected for the present experiment being this the maximum procyanidin concentration after removing the 10% ciders with highest values.

Three different concentrations of the four purified fractions of procyanidins called F_DP3, F_DP5, F_DP7 and F_DP11 were tested at three concentration levels 250, 500 and 750 mg/L. A complete factorial design was established to analyse the impact of aDP and concentration on the sensory perception. The model solution without procyanidins was also tasted. In total 13 samples were tested.

1.1.2.4 Sensory evaluation by a trained panel

1.1.2.4.1 *Panel composition and training*

Sensory panel included 15 paid assessors from Ecole Supérieure d'Agriculture (4 males-11 females aged from 19 to 67 years old). Panelists were informed about the products (purified procyanidins in model solution) they had to evaluate and they have given an informed consent. They were trained on sourness, sweetness, bitter taste and astringency attributes.

Panelists received a 21 hours training (14 individual and group 1H30 sessions) on the sensory characterization of polyphenols in water and in the model solution. First, they familiarized themselves with the three studied tastes and astringency using recognition test and ranking test using caffeine, potassium alum, fructose, malic acid and a commercial apple polyphenol powder (PA 230 Val de Vire BioActives, France containing 38% of procyanidins used up to a maximum concentration of 2 g/L to have finally a maximum concentration of 750mg/L of procyanidins in the samples used for training) in water at several concentrations. Then, after assuring that assessors did not confuse between the different sensory characteristics, alcohol was introduced in the matrix and they worked on scaling tasks using a continuous non-structured scale from low intensity to high intensity. References were proposed for each attributes (Table 3).

Table 3 : References used during training

Low sweetness	Model solution + 2 g/L PA 230
Low sourness	Model solution
Low bitterness	Model solution
Low astringency	Model solution
High sweetness	Model solution + 2 g/L fructose
High sourness	Model solution + 0.5 g/L malic acid
High bitterness	Model solution + 2 g/L PA 230
High astringency	Model solution + 2 g/L PA 230

Before the final evaluation, a performance tasting was organised using the model solution added with the commercial polyphenol extract (PA 230 Val de Vire BioActives, France) used during all training steps at different concentrations and fructose, caffeine or malic acid. Despite a judge effect meaning that tasters didn't used the scale in the same way, panel was discriminant, repeatable and in agreement for each attributes (data not shown).

1.1.2.4.2 Tasting conditions and samples presentation

Tasting took place in individual computerized booths according to NF ISO 8589 norms, in a sensory room at 21°C +/-1°C under red light. Rinsing between samples was done with mineral water and with low salt biscuit. The 13 samples were presented in a sequential monadic way and their order based on a William Latin-square arrangement. Scores were collected by FIZZ (version 2.10; Biosystems, Courtenon, France).

1.1.2.5 Data analysis

Three ways variance analysis was used to analyse data for each attribute. The model used was: Attribute ~ Concentration + DP + Concentration x DP + Judge + Residual. When ANOVA was significant, the mean intensities were then compared by SNK multiple comparison test. All analyses were done using Statgraphics Centurion XVI (Version 16.1.18, Warrenton, USA).

1.1.3 Results

1.1.3.1 Quality of purified fractions

The Table 4 shows that purified fractions of procyanidins contained from 70 to 94% of procyanidins. In all samples, the quantity of monomeric and dimeric procyanidins is negligible. The fraction of DP3 (F_DP3) had 90% of procyanidins in which 87% were DP3 procyanidins and no procyanidins with DP over 6 and presented an aDP of 3.1. The fraction F_DP5 had 67 % DP5 and 12% DP4 with an aDP of 5.1. The F_DP7 contained around 85% procyanidins with 68% DP7 and 18% DP 6. Finally, the HPLC analysis showed that F_DP11 was less pure with around 70% of procyanidins but the content was composed by higher DP with a total of 79 % for DP 10 to 12.

Table 4 : Composition of purified procyanidin fractions

		F_DP3	F_DP5	F_DP7	F_DP11
mg of procyanidins/100 mg of purified procyanidin fractions		90.01	93.77	84.68	70.03
mg of each DP/100 mg Procyanidins	DP1	—	—	0.72	0.74
	DP2	5.46	1.59	0.57	1.17
	DP3	86.81	2.65	0.64	1.01
	DP4	5.18	11.55	0.96	1.02
	DP5	2.54	67.06	2.60	1.56
	DP6	—	6.89	18.24	1.10
	DP7	—	5.20	68.29	1.61
	DP8	—	5.06	6.50	3.28
	DP9	—	—	1.28	9.46
	DP10	—	—	—	27.10
	DP11	—	—	0.27	39.25
	DP12	—	—	—	12.69
Calculated aDP of each fraction		3.20	5.10	6.90	11.10

DP: Degree of polymerization.

aDP: Average degree of polymerization.

F_DP3, F_DP5, F_DP7 and F_DP11 are the name of the four purified fractions (F_) with a number corresponding to the aDP.

1.1.3.2 Impact of polymerisation degree and concentration on perception

The Table 5 shows, globally, a huge impact of procyanidins' concentration on each taste ($p < 0.004$). The DP factor was also significant for astringency ($p=0.0118$). Interaction between DP and concentration was observed for astringency ($p < 0.0001$) and a non-significant but a tendency interaction for bitterness ($p=0.1057$).

Table 5 : Impact of Degree of Polymerization (DP) and concentration on perception

	P value				Average per concentration of fraction				Average per fraction			
	Concentration	DP	DP*Conc.	Judge	0	250 mg/L	500 mg/L	750 mg/L	F_DP3	F_DP5	F_DP7	F_DP11
Bitterness	0.0003	0.3774	0.1057	<0.0001	0.95 a	1.09 a	1.73 a	3.25 b	1.52 -	2.04 -	1.92 -	1.55 -
Astringency	0.0007	0.0118	<0.0001	<0.0001	0.63 a	2.73 b	3.96 bc	5.13 c	1.48 a	2.83 ab	3.74 bc	4.39 c
Sweetness	0.0034	0.1751	0.8807	<0.0001	4.21 c	3.98 bc	3.52 ab	2.97 a	3.89 -	3.40 -	3.51 -	3.89 -
Sourness	0.0025	0.3070	0.8901	<0.0001	2.26 a	2.83 b	3.03 bc	3.53 c	2.84 -	3.17 -	2.73 -	2.91 -

Presented values are:

- ANOVA p -values for factors and interaction.
- Mean values per concentration and per DP fraction. Different lower case letters represent significant differences ($p < 0.05$) among samples averages according to Student Neuman-Keuls (SNK).

1.1.3.2.1 Bitterness

ANOVA results on sensory data (Table 5 and Figure 9) show that concentration of procyanidins had a positive significant impact on perceived bitterness. The higher the polyphenols concentration, the more bitter the solutions. Nevertheless, samples with 250mg/L of purified polyphenols were not different from the model solution without procyanidins and even if those with 500mg/L were more bitter, only products with 750mg/L are significantly different from the model solution.

The effect of the DP factor on bitterness was not significant ($p = 0.3774$). Any purified fraction was significantly bitterer for all concentrations. Nevertheless, p -value for the interaction between DP and concentration was 0.1057. Thus, the bitterness was slightly modified by the DP. A closer look to the evolution of this taste for each DP with the same concentration allows explaining this result. For concentrations 250mg/L and 500mg/L, the bitterness is similar between each DP whereas for the concentration 750mg/L F_DP 5 is significantly bitterer than fraction F_DP 3 and the F_DP11. F_DP 7 at 750 mg/L is intermediate in bitterness (Figure 9).

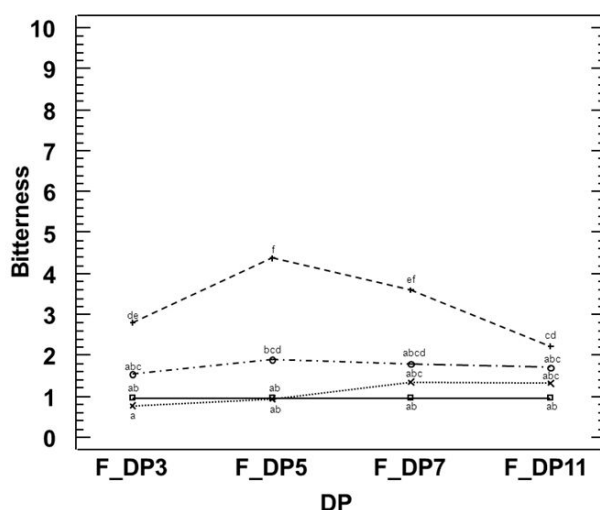


Figure 9 : Mean scores for bitterness as a function of the concentration of each procyanidin fraction (.....x..... 250 mg/L , - - o - - 500mg/L, -- + - - 750 mg/L). Control sample without procyanidins (— □ —) is represented for each fraction. Different lower case letters represent significant differences (p<0.05) among samples averages according to Student Neuman-Keuls (SNK).

1.1.3.2.2 Astringency

Concentration and DP factors were significant (respectively $p = 0.0007$ and $p = 0.0118$, Table 5 and Figure 10) with an interaction between both also significant ($p < 0.0001$). For each DP value, the perceived astringency increased as the concentration increased. Also, for a same concentration, as the DP value increased, the perceived astringency also increased. However, the p-value of concentration showed that it was more influent on astringency perception than the DP and the impact of concentration was more important for higher DP values. The differences in astringency between the three concentrations of F_DP3 were small while for F_DP11 the differences between the low and high concentration was larger.

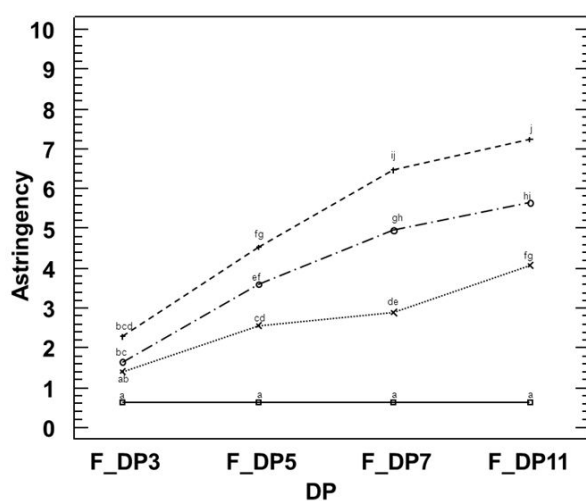


Figure 10 : Mean scores for astringency as a function of the concentration for each DP fraction (.....x..... 250 mg/L , - - o - - 500mg/L, -- + - - 750 mg/L). Different lower case letters represent significant differences (p<0.05) among samples averages according to Student Neuman-Keuls (SNK).

1.1.3.2.3 Sweetness

Although sugar composition was the same in all samples, the perceived sweetness changed according to procyanidins concentration ($p= 0.0034$, Table 5 and Figure 11). Products with higher concentrations of procyanidins (500 and 750 mg/L) were less sweet than the control solution without polyphenols and the solutions with 250mg/L of procyanidins concentration were significantly sweeter than the sample with 750mg/L. The DP had no impact on the sweetness perception ($p= 0.1751$).

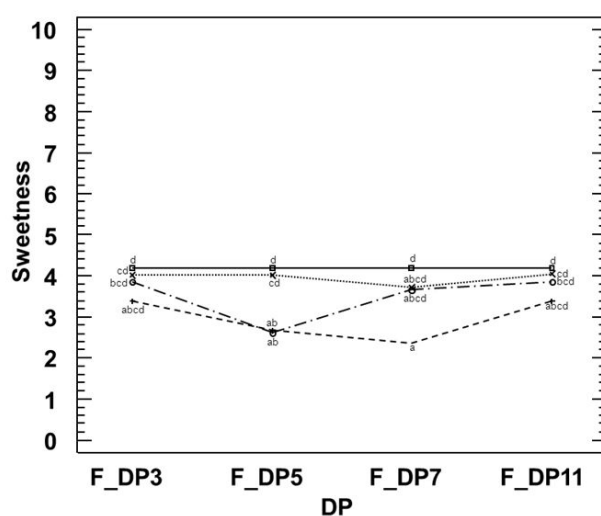


Figure 11 : Mean scores for sweetness as a function of the concentration for each procyanidin fraction. (.....x..... 250 mg/L , — o — 500mg/L, -- + -- 750 mg/L). Different lower case letters represent significant differences ($p<0.05$) among samples averages according to Student Neuman-Keuls (SNK).

1.1.3.2.4 Sourness

Finally, Figure 12 shows, as for sweetness, an effect of the concentration ($p= 0.0025$) on the sourness despite the fact that acid content and pH were the same in all samples (Table 5). Control solution and the 250mg/L samples were less sour than samples with 750mg/L of procyanidins fractions. The DP had no impact on the sourness evaluation ($p= 0.3070$).

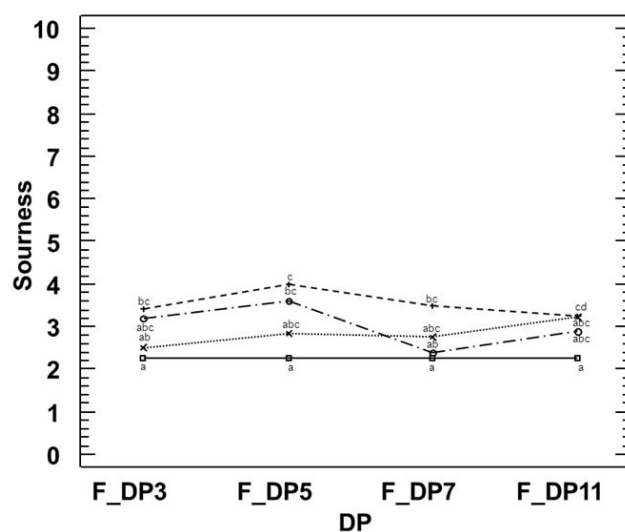


Figure 12 : Mean scores for sourness as a function of the concentration for each degree of polymerization fraction (.....x..... 250 mg/L , - · o - 500mg/L, -- + - 750 mg/L). Different lower case letters represent significant differences ($p < 0.05$) among samples averages according to Student Neuman-Keuls (SNK).

1.1.4 Discussion

The quality of the food grade extract was a critical point in this experiment since high concentration of procyanidins with specific polymerisation degrees were expected in each fraction. The use of specific solvents (hexan, ethanol, ethyl acetate) to obtain fractions with a food grade had consequences on the quality of the final extract composition. Indeed, with traditional solvents as methanol (Shoji et al., 2006) a better purity should have been observed. Nevertheless with more than 70 % of procyanidins in each samples and a large majority of the expected DP, this procedure was pertinent to have food grade procyanidins and allowed a precise study of the impact of procyanidins concentration and aDP on bitterness, astringency, sweetness and sourness.

From a sensory point of view, the concentration of procyanidins had a high impact on all attributes. The here found positive impact of procyanidins' concentration on astringency and bitterness had been previously observed. Maury, Sarni-Manchado, Lefebvre, Cheynier and Moutounet (2001) showed that a decrease in astringency sensation in red wines was in relation with decrease of procyanidins' concentration after fining. Vidal (2004a) et al. demonstrated that from a 0.25g/L up to 0.75g/L of grape seed procyanidins extract the astringency was reinforced. As for bitterness, in the present work the 250mg/L of apple procyanidins was not different from the control without

procyanidins. Then 500mg/L was slightly bitterer and 750mg/L was significantly bitterer for all DPs. Vidal et al. (2004a) observed any difference for bitterness of procyanidins concentration between 0.25g/L and 0.75g/L proposing that a high level of alcohol (from 11% vol to 15%) masks bitterness differences due to procyanidins. In cider, it would be possible for the low level of alcohol to highlight the impact of procyanidins' concentration. To stress this hypothesis, our results are in agreement with those of Kallikathra, Bakker and Clifford (1997b) who worked with other polyphenols in a wine like model solution with 10° alcohol. They showed a clear impact of 750 mg/L of catechin and 350mg/ml epicatechin on bitterness.

The present work also confirmed that the polymerisation degree is also an important factor when studying astringency and bitterness in cider. The higher aDP the more astringent products are, which was observed in several works in cider and wine (Arnold et al., 1980, Lea and Arnold, 1978, Maury et al., 2001, Peleg et al., 1999, Robichaud and Noble, 1990, Vidal et al., 2004a, Vidal et al., 2003, Lea, 1990). Nevertheless, our work highlights an interaction between concentration and the degree of polymerisation for these two sensations, effect which had not been previously reported neither in cider nor in wine.

The difference of astringency between low and high concentrations for small DP is smaller than that observed for high and low concentrations of high DP. This could be explained by the same mechanism of astringency perception found in the red wine (Gawel, 1998) which results from combining at the same time the effect of procyanidins size and the effect of concentration. In the present work, some astringency is observed for small DP when compared to the control model solution. This was in accordance with Peleg, Gacon, Schlich and Noble (1999) who found astringency in monomeric, dimeric but also trimeric flavonoids evaluated at 900mg/L and mentioned an hypothesis from McManus Davis, Lilley and Haslam (1981) that this is due to the presence of 1,2 hydroxy or 1,2,3 trihydroxy groups, generating precipitation of proteins or strong binding with them.

Concerning bitterness, our results are in accordance with Lea and Arnold (1978), indicating that in cider medium procyanidins' DP, (tetrameric for Lea and Arnold, 1978 and pentameric in our case) was bitterer than high DP. Nevertheless it is important to note that this higher bitterness for DP 5 is only observable with a 750mg/L and not for lower concentration, results not observed by Lea and Arnold (1978). Other from the already mentioned, no authors had compared the bitterness of different purified fraction over a aDP of 3. Peleg, Gacon, Schlich and Noble (1999) indicated in aqueous ethanol (1 % vol/vol) that monomers at 0.9g/L were bitterer than dimer and trimer but did

not explore higher DP . In addition, Robichaud and Noble (1990) had tested catechin and a grape seed tanin extract (GST) composed mainly of tetrameric to octameric polymers of epicatechin and catechin. They observed at 1.2g/L in a white wine that catechin was bitterer than the GST with higher DP. This result is not contradictory with the present ones since they did not analyse a fraction with mainly tetrameric and pentameric polymers.

The originality of the present study was also to evaluate the impact of the procyanidins on the perceived sweetness and sourness. Sweetness decreased and sourness increased depending on the polyphenol concentration despite the fact that fructose, malic acid and pH were the same in all samples. The concentration of procyanidins influenced the perception of both tastes whereas the degree of polymerisation had no impact. Bitterness suppressing effect on sweet perception could be responsible of this result. The increase of procyanidins concentration increased the perceived bitterness and therefore, assessors perceived these samples as less sweet. This suppression effect of sweetness by bitter compounds is well known (Walters, 1996, Keast and Breslin, 2003) but had not been reported in cider before. Our hypothesis is that procyanidins do not affect sweetness perception directly but due to a cognitive interaction as a side effect of their effect on bitterness. Moreover, the enhanced perception of sourness in samples with higher concentration of procyanidins could be explained by bitter-sour interactions. This kind of interactions has been previously reported in a work on water model solution (Kamen et al., 1961) where sourness perception of citric acid was increased by the presence of caffeine. In the present work, bitter compounds as procyanidins could be having the same effect. Moreover, this phenomenon could also be explained by a sour-sweetness interaction as well. Sourness perception increased only with an increase in procyanidins concentration, at the same time that sweetness perception decreased. The suppression of sourness by sweetness is well documented (Keast and Breslin, 2003) and often tested by adding sweeteners in solution to observe this diminution of sourness. For cognitive reasons, if consumers perceive a sample as less sweet, they can perceive it more acidic. In this case, the increase of sourness would not be due directly to the procyanidins concentration but due to a dual cognitive interaction. Products with higher procyanidins concentration were bitterer so tasters perceived them less sweet and this weak sweetness perception would lead to an increase of sourness.

1.1.5 Conclusion

Our work highlights that procyanidins concentration plays a main role in bitterness and astringency perception. Moreover, the degree of polymerisation is also an important factor. The increase in the DP conducted to more astringent products and the effect was reinforced by concentration. For bitterness, the DP seemed to be less important but a higher sensation was observed with the pentamer at high concentration of procyanidins. Polyphenols also influenced the perceived sweetness and sourness confirming their importance in the balance of taste in cider.

It is to be noted that these results were obtained in a cider like model solution with low fructose, acid and alcohol contents and results should be confirmed in real ciders or by increasing alcohol concentration to be sure that same results are obtained with higher alcohol content. Further research goes in this direction aiming also to evaluate the interaction between DP and procyanidins concentrations with other cider matrix elements.

Synthèse de cette étude

Cette première étude confirme l'importance des procyanidines dans la perception des caractéristiques sensorielles en bouche du cidre. La concentration en procyanidines influence les quatre attributs sensoriels évalués. L'impact positif sur l'amertume et l'astringence était attendu. Mais on peut noter que pour l'amertume, il faut passer au-delà de 250mg/L de l'extrait de procyanidines pour que le panel le distingue du contrôle sans polyphénols. La particularité des procyanidines issues des pommes face à l'amertume est confirmée. La fraction avec une forte teneur en procyanidines pentamères est plus amère que celle contenant majoritairement des trimères et que les fractions contenant des DP supérieurs ou égale à 7. Mais cet effet n'est observé que lorsque la concentration en polyphénols est de 750mg/L. Concernant l'astringence, il est intéressant de noter l'interaction entre le degré de polymérisation et la concentration. Certes, chacun des facteurs indépendamment modifie positivement l'astringence mais il apparait une synergie qui conduit à une augmentation plus forte de l'astringence pour les hauts DP quand la concentration augmente. Enfin, on doit retenir que dans les conditions étudiées (une solution modèle avec des concentrations faibles en sucre, acide et éthanol), la concentration en polyphénol a eu un impact négatif sur le goût sucré et a légèrement augmenté la perception de l'acidité. En revanche, le degré de polymérisation n'a pas modifié la perception de ces deux saveurs.

1.2. Impact du degré de polymérisation et interactions avec les autres composés principaux de la matrice cidricole

La première expérimentation a confirmé l'impact du degré de polymérisation sur l'amertume et l'astringence. Mais qu'advient-il de cet effet lorsque les procyanidines sont mis en solution dans des concentrations plus conformes avec celles du cidre ?

Un deuxième plan d'expériences a été mis en place pour évaluer l'impact du DP et ses interactions avec les principaux composés chimiques du cidre : fructose, acide malique et éthanol. Ces composés ont, cette fois-ci, été ajoutés aux concentrations rencontrées dans le cidre. Le plan d'expériences a été construit avec les extraits de procyanidines complémentaires de ceux de la première expérimentation à savoir des fractions majoritairement composées de dimères, tétramères, hexamères et une fraction dont le degré de polymérisation des procyanidines présents était supérieur à sept.

LWT - Food Science and Technology 57 (2014) 28–34



Contents lists available at ScienceDirect

LWT - Food Science and Technology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/lwt



Impact of apple procyanidins on sensory perception in model cider (part 2): Degree of polymerization and interactions with the matrix components



R. Symoneaux^{a,*}, S. Chollet^b, R. Bauduin^c, J.M. Le Quéré^d, A. Baron^d

^aLUNAM Université, Groupe ESA, UPSP GRAPPE, 55, rue Rabelais, BP 30748, F-49007 Angers, Cedex 01, France

^bUniversité Catholique de Lille, Groupe ISA, 48 boulevard Vauban, F-59046 Lille, France

^cInstitut Français des Productions Cidricoles, Domaine de la Motte, F-35650 Le Rheu, France

^dINRA, UR1268 BIA – Polyphenols, Reactivity, Processes, F-35650 Le Rheu, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 October 2013

Received in revised form

16 December 2013

Accepted 9 January 2014

Keywords:

Average degree of polymerization

Bitterness

Astringency

Sourness

Sweetness

ABSTRACT

The impact of the degree of polymerization (DP) of procyanidins and its interactions with fructose, acidity and alcohol in a model solution of cider was investigated. Four sensory characteristics (bitterness, astringency, sweetness and sourness) were studied. At 750 mg/L of procyanidins, the DP impacted astringency and bitterness but not sweetness or sourness. The medium DP (tetramer) of apple procyanidins was the most bitter and astringency increased with the DP. The impact of ethanol, fructose and acidity on the four sensory attributes was also examined. These results provide insights into how the components interact to produce the taste of cider.

© 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1.2.1 Introduction

French cider is a slightly alcoholic, fermented apple beverage composed of water, alcohol, volatiles, sugar (mainly fructose), organic acids and polyphenols (Lea & Drilleau, 2003). Its flavor balance (sourness, sweetness, bitterness and astringency) is a major characteristic related to its composition. Cider producers select apple cultivars, choose processes and blend batches to obtain specific sensory characteristics. They need to understand better the link between cider composition and taste in order to control better cider quality and reproducibility.

Lea and Arnold (1978) were the first to work on cider sensory characteristics, focusing on the impact of phenolics and of the degree of polymerization (DP) of apple procyanidins on bitterness and astringency. They used procyanidins extracted from two different ciders and dissolved in water. Astringency was related to higher levels of polymeric procyanidins. The contribution of tetrameric procyanidins to bitterness was shown in one sample of the two studied. Nevertheless, they mentioned some limitations of their study in relation to the high concentration of polymeric procyanidins compared to other oligomers in their cider extracts, which could create artefacts. For this reason, they carried out an informal tasting of purified fractions of procyanidins which identified the peak of bitterness at 2 g/L of tetramers in water. Recently, Symoneaux, Baron, Marnet, Bauduin, and Chollet (2013) confirmed Lea and Arnold's results when working with purified apple procyanidins in a model cider solution. They identified a peak of bitterness for the pentamer but only at a concentration of 750 mg/L. They also highlighted that the effect of procyanidin concentration was greater than the effect of the DP on the perception of bitterness and astringency. Moreover, procyanidin concentration played a role in sweetness and sourness perception.

Lea and Arnold (1978) tested the impact of sugar content (s.g. 1005 vs. 1010), ethanol (water vs. 5% Vol. EtOH) and pH (3.5 vs. 4.0) on the bitterness and astringency perception of cider enriched with a high concentration of procyanidins (4 g/L). They observed a significant positive impact of sugar and ethanol on bitterness whereas astringency was reduced by ethanol. In addition, sugar had no impact on this latter sensation while pH had no impact on astringency or bitterness. This work was limited to a few comparisons and only bitterness and astringency. To the best of our knowledge, no other study has been carried out on ciders in order to study the impact of the matrix components.

Nevertheless, some research has been done on wine and beer, two alcoholic beverages close to cider in terms of composition and containing polyphenols. Several studies have investigated the impact on sensory attributes of the interactions between different compounds and procyanidins from grape or

hops. Like for cider, usually when polyphenols were involved, only bitterness and astringency were evaluated (Arnold, Noble, & Singleton, 1980; Brossaud, Cheynier, & Noble, 2001; Robichaud & Noble, 1990; Vidal et al., 2004). Vidal et al. (2004) indicated that bitterness was not modified by changing tannin concentrations but they hypothesized that ethanol (from 11 to 15% Vol.) could hide the difference in bitterness due to procyanidins. All astringency attributes were mainly determined by the concentration of condensed tannins. Thus, astringency was reduced by acidic polysaccharides and by ethanol. Nevertheless, they observed a significant positive effect of ethanol on bitterness, and a reduction in the presence of proteoglycans. Fontoin, Saucier, Teissedre, & Glories (2008) studied the effect of ethanol and acidity on astringency and bitterness in a model wine solution with added grape seed oligomers. They found that pH impacted only astringency while ethanol reduced perceived astringency and enhanced bitterness.

No authors have studied the role of procyanidins on sourness and sweetness in wine. Nevertheless, some have looked at the impact of wine components on these two characteristics. Zamora, Goldner, and Galmarini (2006) investigated the interactions between sourness and sweetness but the significant effect of ethanol occurred between 4% and 12% Vol., out of the range for cider. They also studied the fructose effect between 2 g/L and 7 g/L, which is lower than the concentration in French ciders. Ishikawa and Noble (1995) also examined the perception of sweetness and astringency in wine but again in concentrations (from 0 g/L to 200 g/L) which are not comparable to ciders.

Despite some interesting results on how components interact in wine or beer, these are not easily generalized to cider. Understanding the relationships and interactions between components in a more complex model solution with concentrations close to those encountered in real products has become essential and needs to be adapted for each product. The aim of the present work was to investigate the impact of the DP of purified apple procyanidin extracts taking into account the role of the matrix components, such as fructose, acidity and ethanol, at concentrations encountered in French cider. A factorial experimental design was carried out in order to evaluate simultaneously the impact of the DP of procyanidins and of sugar, ethanol and acidity as the main effects on astringency, bitterness, sweetness and sourness in a model cider-like solution.

1.2.2 Materials and Methods

1.2.2.1 Purified procyanidins

All procyanidins used in this project were obtained using a food-grade quality process described in Symoneaux et al. (2013). An acetonetic fraction rich in procyanidins was obtained from fifty kilograms of Binet Rouge apple cultivar. This fraction was purified on a reverse-phase C18 preparative column. Then, the oligomers were fractionated by chromatography on a Diol preparative normal-phase column (Kelm, Johnson, Robbins, Hammerstone, & Schmitz, 2006).

Eleven chromatographic peaks were clearly observed corresponding to the different oligomers from 2 to 12. Each purified fraction corresponding to each degree of polymerization was collected separately, concentrated under vacuum then freeze-dried. For the present experiments, fractions corresponded to the degrees of polymerization 2, 4, 6 (later called F_DP2, F_DP4, F_DP6) and a mix of 7, 8 and 9, less easily separated (called F_DP8).

The quality of these four fractions was tested as explained in Symoneaux et al. (2013) following the protocol defined by Guyot, Marnet, Laraba, Sanoner and Drilleau (1998) for the mass of procyanidins in each fraction and using phloroglucinolysis (Kennedy & Jones, 2001) in order to determine the average degree of polymerization (aDP).

Table 6 : Procyanidin composition of the different fractions studied

	F_DP2	F_DP4	F_DP6	F_DP8
Mg of procyanidins/100 mg of purified procyanidin fraction	95	72	83	82
Mg of each DP/100 mg procyanidins				
DP1			0.5	1.0
DP2	69.5	2.5	1.2	3.0
DP3	8.6	5.9	1.1	2.6
DP4	14.9	72.9	2.7	3.3
DP5	7.0	8.7	13.9	4.1
DP6		5.9	69.1	6.7
DP7		1.9	7.0	13.4
DP8		2.1	1.9	29.9
DP9			1.3	19.7
DP10			1.3	7.7
DP11				5.0
DP12				3.7
Calculated aDP of each fraction	2.59	4.23	5.90	7.75

DP: degree of polymerization; aDP: average degree of polymerization. F_DP2, F_DP4, F_DP6 and F_DP8 are the names of the four purified fractions (F_) with the number corresponding to the aDP.

Table 6 presents the four fractions, the concentration of total procyanidins and the concentration of each oligomer. The obtained powder contained from 72 to 95% of procyanidins. In all samples,

monomeric procyanidins were negligible. Fractions F_DP2, F_DP4 and F_DP6 contained around 70% of the expected oligomer, 2, 4 and 6, respectively. Fraction F_DP8 was more dispersed but contained more than 79% of procyanidins with a DP greater than 7 (aDP of 7.75). It was considered representative of the high DP fraction.

1.2.2.2 Model cider solution and experimental design

The aim of the experimental design was to study the effect of the degree of polymerization and the interactions with each main component of cider on bitter, astringent, sweet and acidic characteristics. For this reason, it was decided to build a model cider using a water solution of ethanol, fructose and malic acid at a range of concentrations encountered in commercial French ciders. A large database of 90 products (Le Quéré, Husson, Renard, & Primault, 2006) was used to determine the low and high levels of fructose, malic acid and ethanol. Fructose was fixed at two levels: 20 g/l and 60 g/l, and ethanol at 2.7% Vol. and 5.7% Vol. For the acidic compounds, it was decided to combine malic acid composition and pH. The low level of acidity was fixed at 3.30 g/L of malic acid with a pH of 3.94 and the high level was 5.04 g/L with a pH of 3.48. The pH was obtained by buffering with a KOH solution since potassium is an important mineral in cider. Procyanidin concentration was fixed at 750 mg/L for each fraction since Symoneaux et al. (2013) observed a significant effect of procyanidin DP only at this level of procyanidins.

A half fractional factorial design (Table 7) was established with four factors. The first (named A) was the DP of procyanidins with four levels corresponding to the four fractions. The other three, fructose (B), ethanol (C) and acidity (D), had two levels each. The experimental design consisted of 16 samples which enabled the main effect of the DP (A), its quadratic effects (AA), and interactions between the DP and the other components (AB, AC, AD) to be studied (Table 7). The three other main effects were aliased with interactions; fructose (B) with CD, the ethanol factor (C) with BD and acidity (D) with BC.

1.2.2.3 Sensory evaluation by a trained panel

1.2.2.3.1 Panel composition and training

The sensory panel was composed of 13 paid assessors from the Ecole Supérieure d'Agriculture (4 males and 9 females aged from 20 to 68 years-old). They were recruited specifically for a previous experiment about sensory characterization of procyanidins in a model cider (Symoneaux et al., 2013). Panelists were informed about the products they had to evaluate (purified procyanidins in a model

solution) and they gave their informed consent. They were trained only on sourness, sweetness, bitter taste and astringency. Before the characterization of the 16 samples, panelists had around 50 hours of training on the sensory evaluation of polyphenols in water and in model solutions. The concentrations of fructose, malic acid and ethanol used for training were the same as those used in the experimental design samples.

1.2.2.3.2 Tasting conditions and presentation of samples

Tasting took place in individual computerized booths according to NF ISO 8589 norms, in a sensory room at 21°C +/- 1°C under red light. Rinsing between samples was done with mineral water and a low-salt biscuit. The 16 samples were presented in a sequential monadic way based on a William Latin-square arrangement. Scores were collected by FIZZ (version 2.10; Biosystems, Courtenon, France).

1.2.2.4 Data analysis

All data analyses were carried out using Statgraphics Centurion XVI (Version 16.1.18, Warrenton, USA). First a two-way ANOVA with "Sample" and "Judge" as factors was applied to validate the ability of the panel to distinguish between the 16 samples. The mean intensities were compared by an SNK multiple comparison test. Then, the mixed factorial experimental design was analyzed. A variance analysis for each attribute was carried out in order to determine which main effect and interactions were significant. Standardized Pareto diagrams were analyzed for each attribute and some graphs were obtained using regression coefficients from the experimental design and predicting astringency and bitterness for specific matrix conditions.

1.2.3 Results

Panelists were able to distinguish significantly between the 16 samples. Despite a significant "Judge effect" in the two-way ANOVA, the "Sample effect" was also highly significant for all attributes ($p < 0.0001$) (data not shown). Samples were clearly differentiated (Table 7).

Table 7 : Experimental design and sensory results

Sample	A:DP	B: Fructose	C: Ethanol	D: Acidity	DP	aDP	Fructose (g/L)	Ethanol (%Vol.)	Malic acid (g/L)	pH	Mean values per attribute			
											Sweetness	Sourness	Bitterness	Astringency
S_01	×1	-1	-1	-1	F_DP2	2.59	20	2.7	3.30	3.94	1.20 ^a	2.88 ^{abc}	1.72 ^a	1.65 ^a
S_02	×1	-1	1	1	F_DP2	2.59	20	5.7	5.04	3.48	1.37 ^a	6.03 ^f	4.35 ^{de}	4.32 ^d
S_03	×1	1	-1	1	F_DP2	2.59	60	2.7	5.04	3.48	5.60 ^{bc}	5.62 ^{ef}	1.97 ^a	2.75 ^{ab}
S_04	×1	1	1	-1	F_DP2	2.59	60	5.7	3.30	3.94	6.42 ^c	2.51 ^{ab}	2.78 ^{abc}	1.64 ^a
S_05	×2	-1	-1	-1	F_DP4	4.23	20	2.7	3.30	3.94	1.19 ^a	2.64 ^{abc}	5.58 ^e	4.04 ^{cd}
S_06	×2	-1	1	1	F_DP4	4.23	20	5.7	5.04	3.48	1.78 ^a	5.22 ^{def}	5.80 ^e	4.82 ^{de}
S_07	×2	1	-1	1	F_DP4	4.23	60	2.7	5.04	3.48	5.04 ^b	4.73 ^{def}	2.72 ^{abc}	4.14 ^d
S_08	×2	1	1	-1	F_DP4	4.23	60	5.7	3.30	3.94	6.44 ^c	2.88 ^{abc}	3.92 ^{bcd}	2.85 ^{abc}
S_09	×3	-1	-1	-1	F_DP6	5.90	20	2.7	3.30	3.94	1.67 ^a	3.79 ^{bcd}	2.55 ^{ab}	5.05 ^{de}
S_10	×3	-1	1	1	F_DP6	5.90	20	5.7	5.04	3.48	1.48 ^a	4.90 ^{def}	4.25 ^{cde}	5.72 ^{ef}
S_11	×3	1	-1	1	F_DP6	5.90	60	2.7	5.04	3.48	4.75 ^b	4.22 ^{cde}	2.37 ^{ab}	5.89 ^{ef}
S_12	×3	1	1	-1	F_DP6	5.90	60	5.7	3.30	3.94	6.61 ^c	2.05 ^a	3.05 ^{abcd}	3.93 ^{bcd}
S_13	×4	-1	-1	-1	F_DP8	7.75	20	2.7	3.30	3.94	1.07 ^a	3.12 ^{abc}	2.43 ^{ab}	7.31 ^g
S_14	×4	-1	1	1	F_DP8	7.75	20	5.7	5.04	3.48	1.30 ^a	5.27 ^{def}	3.00 ^{abcd}	7.82 ^g
S_15	×4	1	-1	1	F_DP8	7.75	60	2.7	5.04	3.48	4.78 ^b	4.78 ^{def}	1.85 ^a	6.80 ^{fg}
S_16	×4	1	1	-1	F_DP8	7.75	60	5.7	3.30	3.94	6.69 ^c	2.00 ^a	3.20 ^{abcd}	5.91 ^{ef}

DP: degree of polymerization. aDP: average degree of polymerization. F_DP2, F_DP4, F_DP6 and F_DP8 are the names of the four purified fractions (F_) with the number corresponding to the aDP. Different lower case letters represent significant differences ($p < 0.05$) between sample averages according to the Student Newman-Keuls (SNK) test.

Table 8 presents the probability value for each effect and interaction of the experimental design. A significant impact of fructose was observed for each attribute but with a p-value of only 0.0657 for sourness. The amount of acid in the model solution significantly modified the perception of sourness, and also sweetness and astringency, but had no impact on bitterness. The quantity of alcohol influenced both bitterness and sweetness. Finally, the impact of the DP of procyanidins was limited to astringency with a direct effect and to bitterness with a quadratic effect. It is noticeable that no interaction between the degree of polymerization and the three other components (fructose, acidity and ethanol) was significant.

Table 8 : Probability levels of significance of the main effects and interactions

Factors	Bitterness	Astringency	Sweetness	Sourness
A:DP	0.2515	<0.0001	0.6076	0.3218
B:Fructose	0.0035	0.0026	<0.0001	0.0657
C:Ethanol	0.0007	0.7854	0.0005	0.7344
D:Acidity	0.6825	<0.0001	0.0070	<0.0001
AA	0.0009	0.4263	0.7810	0.5137
AB	0.2956	0.7427	0.7498	0.4513
AC	0.5395	0.1854	0.4614	0.5349
AD	0.3278	0.1895	0.3126	0.4033

DP: degree of polymerization.

1.2.3.1 Astringency

Figure 13a is the standardized Pareto diagram for astringency. It summarizes several statistics on histograms where each bar is proportional to the absolute value of its standardized effect. The degree of polymerization significantly modified the perceived astringency of the samples. The higher the aDP was, the more astringent the samples were. The non-significance of the quadratic effect (AA) indicated that the effect was linear. Astringency was also significantly increased by acid content; products with a higher concentration of malic acid (and lower pH) were more astringent. Fructose also had a significant impact on the perceived astringency. As its concentration increased, the perception of astringency decreased. All interactions between the DP and fructose, acidity and ethanol were not significant. These results indicated that the observed impact of the degree of polymerization on astringency were not dependent on the level of the other three factors.

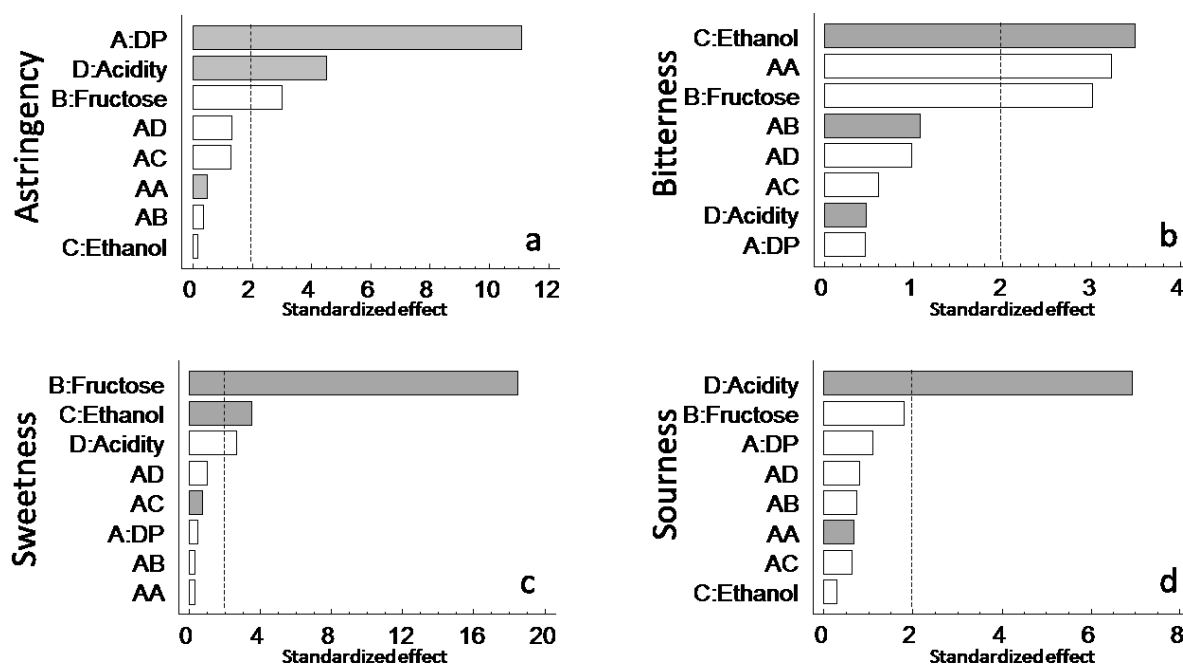


Figure 13 : Pareto charts showing the standardized effects of the DP (degree of polymerization) of procyanidins, fructose, acidity, ethanol content and interactions on (a) astringency, (b) bitterness, (c) sweetness, (d) sourness. The color of the bar shows whether the effect is positive (gray) or negative (white) on the studied attribute. The vertical line indicates the lower limit of significance of the effects at a level of 5%.

Figure 14 presents predicted astringency as a function of the degree of polymerization calculated with the regression coefficient of the significant factors (Table 9) for two contrasted conditions of acid and sugar contents. This representation clearly shows the linear change in astringency depending on the DP value and how much the condition with low sugar and high acidity is more astringent than the opposite condition with a high sugar content and less acidity.

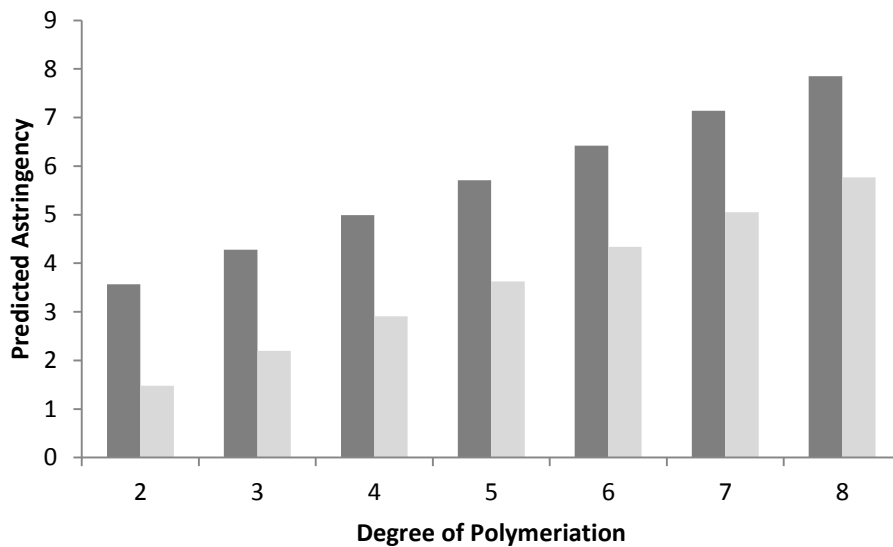


Figure 14 : Effect of degree of polymerization on astringency for ■ fructose = 20 g/L, malic acid = 5.04 g/L, pH= 3.48 (dry cider) and for □ fructose = 60 g/L, malic acid = 3.30 g/L and pH= 3.94 (sweet cider)

1.2.3.2 Bitterness

The impact of the different factors on bitterness is summarized on the standardized Pareto diagram in Figure 13b. Ethanol was the first component impacting positively on bitterness. Samples with 5.7% Vol. were more bitter than products with 2.7% Vol. Then the quadratic effect of the DP was

significant with a negative sign meaning that bitterness reached a maximum between F_DP2 and F_DP8.

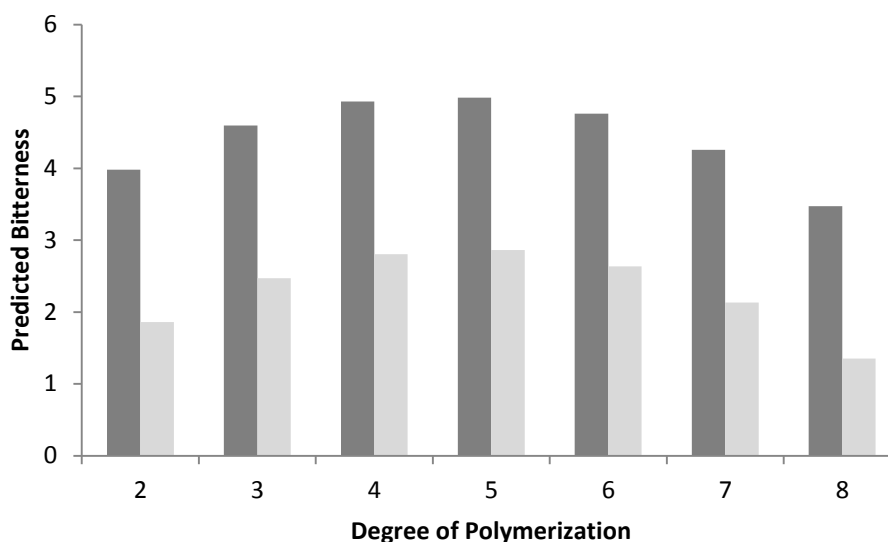


Figure 15 : Effect of degree of polymerization on bitterness for ■ fructose = 20 g/L and ethanol = 5.7% Vol. (dry cider) and for ■ fructose = 60 g/L, ethanol = 2.7% Vol. (sweet cider).

Figure 15 represents the predicted bitterness calculated from the coefficients of regression of the model (Table 9) in conditions found in average sweet or dry French cider (with 2.7% Vol. alcohol and 60 g/L fructose or 5.7% Vol. alcohol and 20 g/L fructose, respectively). This confirmed the effects of ethanol and sweetness on bitterness. It also showed the quadratic effect of the degree of polymerization. Intermediate DPs were more bitter than low and high DPs. This result was confirmed when the mean values of the 16 samples were studied (Table 7). The sample containing fractions with a high concentration of tetrameric procyanidins was more bitter than samples containing the other fractions in the same conditions of fructose, acidity and alcohol.

Table 9 : Coefficients of the general linear model for the four attributes

Factors	Bitterness	Astringency	Sweetness	Sourness
Constant	0,2299	-1,0188	-0,4548	-1,7423
A:DP	1,3103	0,7143		
B:Fructose	-0,0244	-0,0212	0,1102	
C:Ethanol	0,3817		0,2830	
D:Acidity		0,7101	-0,3730	1,3567
AA	-0,1395			
AB				
AC				
AD				

DP: degree of polymerization.

1.2.3.3 Sweetness and sourness

Despite the main aim of the experimental design being to study the perception of bitterness and astringency, the other characteristics of sourness and sweetness were also observed for their main effects. Figure 13c and 13d represent the standardized Pareto diagrams for sweetness and sourness, respectively. The degree of polymerization of procyanidins with a concentration of 750 mg/L had no impact on these two attributes. Not surprisingly, fructose had a very positive impact on sweetness perception. To a lesser extent, a positive effect of ethanol and a negative effect of acidity were observed. Sourness was also impacted positively by acidity whereas a small decrease was observed with fructose ($p = 0.0657$). Ethanol had no impact on sourness perception.

1.2.4 Discussion

1.2.4.1 What is the impact of the DP of procyanidins on astringency and what are its interactions with sucrose, acidity and ethanol?

The degree of polymerization of procyanidins has an impact on astringency. The higher the degree of polymerization, the more astringent the products are. This impact has previously been described in wine (Arnold et al., 1980; Peleg, Gacon, Schlich, & Noble, 1999; Robichaud & Noble, 1990; Vidal et al., 2004; Vidal et al., 2003) but only twice in cider by Lea and Arnold (1978) and Symoneaux et al. (2013). Astringency results from hydrogen bonding between o-diphenolic groups and salivary proteins causing them to precipitate. The greater the procyanidins, the greater their ability to form these bonds and to precipitate the proteins (Zanchi et al., 2008) and thus the more astringent the products are.

Astringency was also modified in relation to the sugar and acidity composition of the model solution. Acidity enhances the perceived astringency. The literature indicates that only pH has a significant impact on astringency. In wines, several studies found that low pH wines increased tannin oligomer astringency (Guinard, Pangborn, & Lewis, 1986; Noble, 1998). Sowalsky and Noble (1998) found that the astringency elicited by acids is only a function of pH and not of the acid concentration. Nevertheless, for a pH between 3.5 and 4.0 in a model wine solution with 11% Vol. of ethanol, Fontoin et al. (2008) did not observe a significant effect. In the present study on cider with a pH between 3.5 and 4, our results are significant. This could be due to the fact that, in our study, pH and acidity were linked whereas for Fontoin et al. (2008), the different pHs were evaluated as an

independent factor. Panelists may also be more sensitive when working between two concentrations, as in the present study, than working on these two concentrations among two others with lower pH (2 and 3.5). Another explanation results from an interaction between ethanol content and the acidity effect. In fact, the use of 11% Vol. of ethanol to reduce the astringency could hide the impact of pH, which does not occur when the ethanol content is between 2.7 and 5.7 % Vol.

The decrease in astringency with sucrose was observed previously by Ishikawa and Noble (1995). The “astringency time parameters” of solutions with grape seed tanins, 13.9% Vol. ethanol and a pH of 3.78, are significantly decreased by addition of 50 g/L of sucrose or more. This phenomenon is probably due to an increase in the viscosity of the solution since Smith, June and Noble (1996) found that astringency is reduced by increasing viscosity and not by the perceived sweetness of aspartame. In two model ciders with 4 g/L of procyanidin extract (Lea & Arnold, 1978), the difference of approximately 11 g/L of sugar was not sufficient to modify the astringency. In the present study, working with real cider concentrations, 40 g/L of fructose was efficient to reduce significantly the astringency given by 750 mg/L of procyanidins, probably due to an increase in viscosity caused by fructose. Ethanol could also modify astringency by changing the viscosity of the solution (Fontoin et al., 2008) but, in the present model solution with a difference of 3% Vol., the gap is not large enough to modify the perceived astringency.

1.2.4.2 What is the impact of the DP on bitterness?

The greater bitterness of a medium DP, as first reported by Lea & Arnold (1978) for tetramers and confirmed by Symoneaux et al. (2013), was observed again in the present study but with pentameric procyanidins. At 750 mg/L of procyanidins, the presence of increasing concentrations of sugar, acid and ethanol did not hide this particular property of procyanidins although the bitterness was enhanced by ethanol and reduced by sucrose. This impact of alcohol on the molecules responsible for bitterness, and more precisely due to polyphenols, has often been described (Chialva & Dada, 1990; Fischer & Noble, 1994; Lea & Arnold, 1978; Martin & Pangborn, 1970; Noble, 1994; Panovska, Sediva, Jedelska, & Pokorny, 2008; Pyle, 1986; Thorngate, 1992). Moreover, ethanol itself can elicit bitterness as mentioned by Noble (1994) and Scinska et al. (2000). Nevertheless, the difference of 3% Vol. observed in cider could have been non-significant since Fontoin et al. (1997) found no differences between two different concentrations of alcohol (0 and 7% Vol.) using solutions with 2 g/L of tanins, 4 g/L of tartaric acid and pH 3.5. A significant effect was observed only for ethanol concentrations over 16% Vol. in vermouth solutions (Panovska et al., 2008). In the context of the

present experiment with the concentrations of procyanidins observed in cider, the difference of 3% Vol. is significant to modify bitterness. Samples with higher ethanol concentrations are significantly more bitter than products with 2.7% Vol. Concerning sucrose, numerous authors have reported this reductive effect in model wine solutions (Burns & Noble, 1985; Green, Lim, Osterhoff, Blacher, & Nachtigal, 2010; Keast & Breslin, 2003; Noble, 1994). Our results are in agreement with those of Lea and Arnold (1978) who observed this decrease in bitterness for a difference of 10 g/L in model cider solutions. Finally, acidity had no impact on bitterness, which is in accordance with results obtained in wine (Fischer & Noble, 1994; Fontoin et al., 2008) and in cider (Lea & Arnold, 1978).

1.2.4.3 Can the DP modify perceptions of sweetness and acidity?

Whatever the different degrees of polymerization, neither sweetness nor sourness perception was modified at a concentration of 750 mg/L of procyanidins. These results are in accordance with the work done by Symoneaux et al. (2013) who observed that both attributes were modified only by procyanidin concentration and not by the degree of polymerization itself. In numerous works, sweetness is found to be reduced by bitter compounds (Calvino, García-Medina, & Cometto-Muniz, 1990; Keast & Breslin, 2003; Walters, 1996). Nevertheless, in the case of the tetrameric fraction at 750 mg/L in a model cider solution, the bitterness was not strong enough to reduce the perceived sweetness. The sweetness was thus increased by sucrose and also ethanol addition. The latter enhanced the sweetness slightly due to a sweet contribution of ethanol itself (Scinska et al., 2000) and has been observed in model solutions (Zamora et al., 2006) but never in cider. The observed effect of malic acid and pH was expected. The reduction in sweetness by acid is well described in the literature (Bartoshuk, 1975; Green et al., 2010; Keast and Breslin, 2003). Finally, sourness was modified by acidity itself (malic acid and pH). The expected decrease in sourness by sucrose, as noted in the literature (Bartoshuk, 1975; Martin & Pangborn, 1970; Pelletier, Lawless, & Horne, 2004; Zamora et al., 2006), was observed but with a p-value just over 0.05. The impact of ethanol on the suppression of sourness as mentioned by Martin and Pangborn (1970) was not observed here, probably due to the low range of ethanol studied. Zamora et al. (2006) also noted no impact of ethanol on sourness unless when comparing solutions with 4% Vol. vs. 12% Vol. ethanol concentrations but this range of concentrations was not tested in the present study.

1.2.5 Conclusion

The present work indicates how cider components impact sweetness, sourness, bitterness and astringency. A fractional factorial design was used to study the impact of the degree of polymerization of procyanidins and interactions with fructose, ethanol and acidity on these four attributes. The main highlight is that, for a concentration of 750 mg/L of procyanidins, the fraction composed of mainly tetramers or pentamers of procyanidins was the most bitter. The degree of polymerization also impacted astringency, which increased as the DP increased. Moreover, the DP had no impact on sweetness and sourness.

The specificity of each constituent in the beverage (sugar, procyanidin type, acid, ethanol) and their concentrations explain the differences between the results in the literature. Authors have often studied the impact of one or two constituents on sensory attributes over a large range from 0 to the concentration observed in a particular drink. Thus, they obtain controversial results with sometimes no significant effect when the data are thoroughly analyzed to compare the different concentrations studied. The use of a factorial design in order to study the impact of several components on perceived sweetness, sourness, bitterness and astringency enables the impact of each component and some interactions in the range observed in real products to be obtained simultaneously. This approach is more informative and can be the basis for developing predictive models integrating several designs.

The focus on cider concentration provides some special features of the impact of each component and will give indications for producers to adapt the sensory characteristics of their products based on their composition. Notably, modifications in the procyanidin profile independently of the concentration could modify the perception of both astringency and bitterness. These results should be confirmed by a study on the additivity between DPs. Although purified DP fractions give clear results, nothing is yet known about the way in which the different DPs could interact in real cider.

Synthèse de cette étude

L'impact des procyanidines sur l'amertume et l'astringence est, à nouveau, confirmé par cette étude. Plus le degré de polymérisation augmente, plus la solution est astringente. Par ailleurs, comme l'avaient montré Lea et Arnold (1978), les procyanidines tétramères issus des pommes surexpriment l'amertume même quand la solution est plus complexe. Il faut cependant noter que la concentration en procyanidines étudiée ici a délibérément été fixée à 750 mg/L puisque dans le premier plan d'expériences, l'effet du DP sur l'amertume n'était pas observé pour les concentrations inférieures. À nouveau, il apparaît que le degré de polymérisation ne modifie pas le goût sucré, ni l'acidité de la solution modèle. Il faut enfin souligner qu'aucune interaction entre le degré de polymérisation et les autres composés (fructose, acide malique et éthanol) n'est significative.

En complément de ces effets du DP, ce plan d'expériences permet d'observer certaines interactions liées à la composition de la matrice. Ainsi, l'astringence est réduite par le fructose et augmentée par l'acidité mais n'est pas modifiée par l'éthanol. L'amertume est renforcée par l'éthanol et diminuée par l'augmentation du fructose. Le goût sucré est principalement lié à la concentration en fructose mais l'éthanol impacte positivement cette sensation et la présence d'acide malique vient logiquement diminuer le goût sucré. Enfin, l'acidité perçue est modulée par la concentration en acide et le pH avec une légère diminution quand la concentration en fructose est augmentée.

1.3. Prédiction des caractéristiques organoleptiques des cidres en fonction de leur composition chimique.

Les deux plans d'expériences précédemment présentés étaient construits sciemment pour explorer précisément l'impact des procyanidines sur le goût sucré, l'acidité, l'amertume et l'astringence. Ces plans ne permettaient que partiellement l'étude simultanée des effets de tous les composés chimiques et leurs interactions. Le deuxième plan d'expériences qui était demi-fractionnaire contenait, en effet, des alias entre les effets principaux de fructose, de l'acide et de l'éthanol et les interactions entre ses composés.

Afin d'approfondir l'ensemble des relations entre les composés du cidre et les quatre attributs sensoriels étudiés, un troisième plan d'expériences a été construit pour étudier les effets directs et quadratiques du fructose, de l'acidité, de l'éthanol et de la concentration en procyanidines ainsi que l'ensemble des interactions entre ces composés. Il n'était pas possible techniquement de travailler avec des procyanidines de la pureté de ceux étudiés précédemment. Aussi, nous avons choisi d'intégrer l'impact du degré de polymérisation par l'étude de deux fractions présentant des degrés de polymérisation moyens différents donc ayant une distribution d'oligomères et polymères sensiblement différente.

LWT - Food Science and Technology 61 (2015) 63–69



Contents lists available at ScienceDirect

LWT - Food Science and Technology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/lwt



Prediction of sensory characteristics of cider according to their biochemical composition: Use of a central composite design and external validation by cider professionals



Ronan Symoneaux ^{a,*}, Sylvie Chollet ^b, Corinne Patron ^a, Remi Bauduin ^c, Jean-Michel Le Quéré ^d, Alain Baron ^d

^a Groupe ESA, UPSP GRAPPE, SFR QUASAV 4207, 55 rue Rabelais, 49007 Angers, France

^b Université Catholique de Lille, Groupe ISA, 48 boulevard Vauban, 59046 Lille, France

^c Institut Français des Productions Cidricoles, Domaine de la Motte, 35650 Le Rheu, France

^d INRA, UR1268 BIA- Polyphenols, Reactivity, Processes, Domaine de la Motte, 35650 Le Rheu, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 24 June 2014

Received in revised form

12 November 2014

Accepted 13 November 2014

Available online 20 November 2014

Keywords:

Procyanidin

Bitterness

Astringency

Flavor

Sensory interaction

ABSTRACT

A large experimental design containing 72 cider-like model solutions was developed in order to evaluate the impact of apple procyanidins, fructose, acid content and ethanol on four sensory attributes: bitterness, astringency, sweetness and sourness. Based on cider composition, this work investigated the linear and quadratic effects of these four quantitative factors and the interactions between them. The results underline the role of procyanidin content (procyanidin profile and concentration) in cider, which highly impacts bitterness and astringency but also affects sweetness and sourness. Using an external validation based on a sensory evaluation by cider professionals, one predictive model for each sensory attribute is proposed.

© 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1.3.1 Introduction

Cider is a slightly alcoholic beverage resulting from the fermentation of apple juice. Originally processed in several countries in Europe (France, Ireland, Great Britain, Poland, Latvia and Spain), it is now also produced in Argentina, Australia, and South Africa. The main chemical constituents are water, sugar (principally fructose), organic acids, ethanol and polyphenols (Lea and Drilleau, 2003). Mastering the quality and the regularity of production needs a better understanding of the way cider components, notably procyanidins, interact to construct the final flavor of cider (MAIPROCI, 2011). Although the aromatic dimension should not be forgotten, the cider mouthfeel perception results from interactions between these constituents and their effect on sweetness, sourness, bitterness and astringency.

In cider research, very few works have studied the link between chemical composition and mouthfeel perception. Only Lea & Arnold (1978), Symoneaux, Baron, Marnet, Bauduin, Le Quéré & Chollet (2014a) and Symoneaux, Chollet, Bauduin, Le Quéré & Baron (2014b) have evaluated cider with a focus on the effects of procyanidins on these characteristics, working with model solutions. They identified that small procyanidins, notably tetramers and pentamers, were more bitter. They also noticed that the higher the average degree of polymerization (aDP) was, the more astringent the solutions were. Symoneaux et al. (2014a) also studied the role of procyanidins in sweetness and sourness, demonstrating that only the concentration of procyanidins (not their aDP) impacts these two characteristics, but in a cider-like model solution with a low acid and sugar content. The effect of the average degree of polymerization (aDP) and its interactions with fructose, malic acid and ethanol content in a range of commercial ciders was the main focus of the work done by Symoneaux et al. (2014b). They confirmed the positive impact of aDP on astringency and the role of apple procyanidin pentamers in enhancing bitterness in cider without any significant interactions between the polymerization degree and the other constituents. Nevertheless, these two works were carried out using a half fractional design due to the amount of purified procyanidins available. Thus, although the way procyanidins (concentration and aDP) impacted mouthfeel characteristics could be identified, it was not possible to access all interactions satisfactorily, notably those between other constituents (fructose, ethanol and acid), and to generate generic models adapted for predicting the mouthfeel perception of ciders.

In wine, research on the effects of chemical compounds on organoleptic characteristics is extensive (Arnold et al., 1980, Brossaud et al., 2001, Robichaud and Noble, 1990, Vidal et al., 2004a, Fontoin et

al., 2008). However, the composition of wine is quite from cider with more alcohol, different acid characteristics and different types of procyanidins. For these reasons, it is not possible to generalize results from wine to cider.

Moreover, the influences of constituents are most often studied independently and no study has focused on the effects of the interaction of cider components in mixture formulations through experimental designs and modeling.

Besides, in experimental designs, models are generally validated internally by the calculation of R^2 or by evaluating the lack of fit using a variance analysis approach integrating the replicate central points (Myers et al., 2009, Droesbeke et al., 1997). Nevertheless, in sensory science, the results could be panel-dependent. In an inter-laboratory comparison, Pagès and Husson (2001) indicated that contradictory conclusions could occasionally be observed between several panels performing descriptive tasks. This point relates to the reproducibility of results discussed in the guidelines for monitoring and assessing the overall performance of a quantitative descriptive panel (ISO, 2012). A good way to assess reproducibility is to ask a second panel to evaluate products coming from the same experimental domain and to check if the predicted values are in accordance with the observed data from the second panel.

The aim of this study was to build predictive models for cider-like model solutions integrating the effects of fructose, acid, ethanol and polyphenol content on bitterness, astringency, sweetness and sourness using a central composite design including interactions and quadratic effects. This design enabled the results from the two previous works done with a half fractional design (Symoneaux et al. 2014a,b) to be challenged and the study of the main effects and interactions not investigated previously with the range of concentrations encountered in French commercial ciders to be completed. The predictive models were validated externally using a different panel composed of cider makers tasting another set of experimental products. The use of professionals for this validation should allow a better generalization of the conclusions.

1.3.2 *Materials and methods*

1.3.2.1 Procyanidin extracts

In order to evaluate the impact of procyanidin profile on mouthfeel perception, two fractions of procyanidins were obtained using the following procedure. Five hundred liters of a very bitter and astringent cider containing a high concentration of procyanidins was used for this purpose. Fraction A was directly extracted from 200 L of this cider and Fraction B was extracted from 300 L of this cider previously treated to reduce the high DP procyanidin concentration of the original cider : for this treatment the 300 L cider sample was left for 2 hours at 0°C in contact with apple mash (previously washed with water) using a method derived from previous works (Le Bourvellec et al., 2007).

Table 10 : Procyanidin content of the two polyphenol fractions after dilution in order to have the same procyanidin content. Procyanidin content and aDP was calculated from the method described by Guyot et al. (2008). The concentration of each DP was calculated using the proportion of each DP obtained by the method developed in Kelm et al. (2006). SD: pooled standard deviation calculated according to Box et al. (1978).

Mother solution used				
	DP	Fraction A	Fraction B	SD
Concentration of each DP (mg/L)	2	7.59	9.25	0.04
	3	5.80	6.24	0.03
	4	5.01	4.86	0.04
	5	4.02	3.82	0.04
	6	2.90	2.55	0.02
	7	2.16	1.71	0.05
	8	1.41	0.89	0.03
	9	0.80	0.50	0.04
	10	0.31	0.18	0.02
	Procyanidin content (mg/L)		30.00	30.00
aDP		3.22	2.99	

DP: degree of polymerization; aDP: average degree of polymerization.

Then, the polyphenols were extracted from these two samples by adsorption on a food grade column (Amberlite FPX66 / Rohm and Haas). After rinsing, the polyphenols were eluted by ethanol 96% vol and the resulting fractions were then concentrated to remove ethanol and freeze-dried for storage. These extracts were diluted to prepare two mother solutions adjusted to the same procyanidin content. An analysis of the DP profile was done using a method described by Kelm, Johnson, Robbins, Hammerstone, & Schmitz (2006) on a diol stationary phase columns and an UV detector. This method gives a good evaluation of the proportion of each DP but not of the average DP nor the total procyanidins content because of the bad resolution on the higher DP. Total procyanidins and aDP were then quantified following the method described by Guyot, Marnet, Laraba, Sanoner, & Drilleau

(1998). As expected the procyanidin profiles of the two fractions obtained were different (Table 10) and the aDP of Fraction A coming from the original cider was significantly higher than that of B due to a higher proportion of procyanidins with a polymerization degree greater than 4.

1.3.2.2 Experimental design and model solutions

An experimental design with 5 factors (procyanidin fraction, procyanidin concentration, fructose, malic acid (and pH) and ethanol content) was built. The first factor had 2 levels corresponding to the two fractions obtained, A (coded 1) and B (coded -1). The effect of the four other quantitative factors, with five levels each (-2, -1, 0, 1, 2), was arranged following a central composite design. It resulted in seventy-two samples including twelve replicates of the central point for each fraction as recommended by Cliquet, Durier & Kobilinski (1993) in order to evaluate the direct effects of the five factors and the interactions between them and the quadratic effects of the quantitative ones. These replicates enabled the isovariant by rotation and the orthogonal properties of the design to be conserved.

The concentration ranges were chosen to include the compositions of French commercial ciders (database studied in Le Quéré et al., 2006) and were previously studied by Symoneaux, Chollet, Bauduin, Le Quéré, & Baron (2014b): polyphenols (0, 375, 750, 1125, 1500 mg/L), fructose (0, 20, 40, 60, 80 g/L), malic acid (2.43, 3.3, 4.17, 5.04, 5.91 g/L) being linked to pH by adjusting respectively pH to 4.17, 3.94, 3.71, 3.48 and 3.25, and ethanol (1.2, 2.7, 4.2, 5, 7.2 % vol.).

For the external validation by the second panel, thirty model solutions were prepared with a 50/50% blend of fractions A and B. They were selected to cover the main variations in bitterness, sweetness and astringency. This validation was performed simultaneously with a training course about mouthfeel modulation in cider.

1.3.2.3 Sensory evaluation by a trained panel and a panel of cider professionals

The trained panel of eighteen panelists was trained for 30 hours on the sensory evaluation of a model cider solution (Symoneaux et al., 2014b). During the training sessions, they worked with

references for each attribute containing a blend of the two fractions A and B with the concentrations presented in Table 11.

Table 11 : References used during training

	Fructose (g/L)	Malic acid (g/L)	pH	Ethanol (% vol)	Procyanidin concentration (mg/L)
Low sweetness	0	4.17	4.2	4.2	750
Low sourness	40	2.43	4.17	4.2	750
Low bitterness	40	4.17	4.2	4.2	0
Low astringency	40	4.17	4.2	4.2	1500
High sweetness	80	4.17	4.2	4.2	750
High sourness	40	5.91	3.25	4.2	750
High bitterness	40	4.17	4.2	4.2	1500
High astringency	20	5.04	3.48	2.7	1125

They evaluated the 72 samples from the experimental design during eight sessions under standard sensory conditions (AFNOR, 1994). Samples were presented in a sequential monadic way and their order was based on a Williams Latin-square arrangement. Scores for the four attributes (sour, sweet, bitter and astringent) were collected on a 14-cm linear scale by FIZZ (version 2.10; Biosystems, Courtenon, France).

The performance of the panel (discrimination, repeatability and agreement) was checked using the results of the present experiment. The panel was able to differentiate highly the products ($p < 0.0001$), the results were repeatable with a standard deviation for the 2 x 12 replicates of around 0.45 (Table 12) and the agreement between panelists was correct (data not shown).

Table 12 : Standard deviation for the 12 replicates of the central point for both fractions.

	Sweetness	Sourness	Bitterness	Astringency
Fraction A	0.456	0.444	0.511	0.481
Fraction B	0.380	0.468	0.425	0.518

For the external validation of the predictive models obtained from the experimental design, a panel independent of the previous one was used. It was composed of 34 cider professionals who had worked from 5 to 30 years in this field as producers, oenologists, and technicians. They were trained for one hour at the beginning of the session in basic taste and astringency recognition in water using the same molecules and concentrations as the sensory panel (Symoneaux et al., 2014a,b) and they

were presented with the eight references corresponding to the scale extremities of the four attributes (Table 11).

Thirty samples were evaluated different from those used in the experimental design and varying mainly in ethanol, fructose and polyphenol concentration. Professionals were asked to score the four sensory attributes on 11-point structured scales anchored by “not at all” to “very intense” and transformed into marks from 0 to 10.

In both panels, the panelists were informed about the products (procyanidins in a model solution) they had to evaluate and they gave their informed consent.

1.3.2.4 Statistical analysis

The data were analyzed using Statgraphics Centurion XVI (Version 16.1.18, StatPoint Technologies, Inc.). The polynomial used to fit the model is given in Eq. (1).

Eq. (1)

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^5 \beta_i \chi_i + \sum_{i=2}^5 \beta_{ii} \chi_i^2 + \sum_{i=1}^5 \sum_{j=1}^5 \beta_{ij} \chi_i \chi_j + \varepsilon$$

where y represents the response variables (sweetness, sourness, bitterness and astringency), χ_1 is the fraction of procyanidins used in the model solution (A or B), χ_2 is the concentration of fructose, χ_3 is the concentration of malic acid, χ_4 is the concentration of ethanol and χ_5 is the concentration of procyanidins, β_0 is a constant, β_i represents the linear terms, β_{ii} are the quadratic terms, β_{ij} represents the interaction terms and ε is the random error. The significance of all the terms in the polynomial equation and the goodness of fit of the model evaluated by the coefficient determination (R^2) were judged statistically by using the analysis of variance (ANOVA) approach. A significance level of 5% was adopted in the standard error analysis.

For the external validation of the models, predicted values of the sensory scores were calculated from the model for the thirty evaluated samples and they were crossed with the observed average data of the professional panel. Correlation coefficients and root mean square errors of prediction (RMSEP) were calculated as validation values of the predictive models.

1.3.3 Results and discussion

1.3.3.1 Impact of each component on the studied sensory characteristics

Figure 16 represents the Pareto diagrams obtained from the experimental design. It shows the standardized weight and the direction of each factor and interaction on each evaluated sensory attribute.

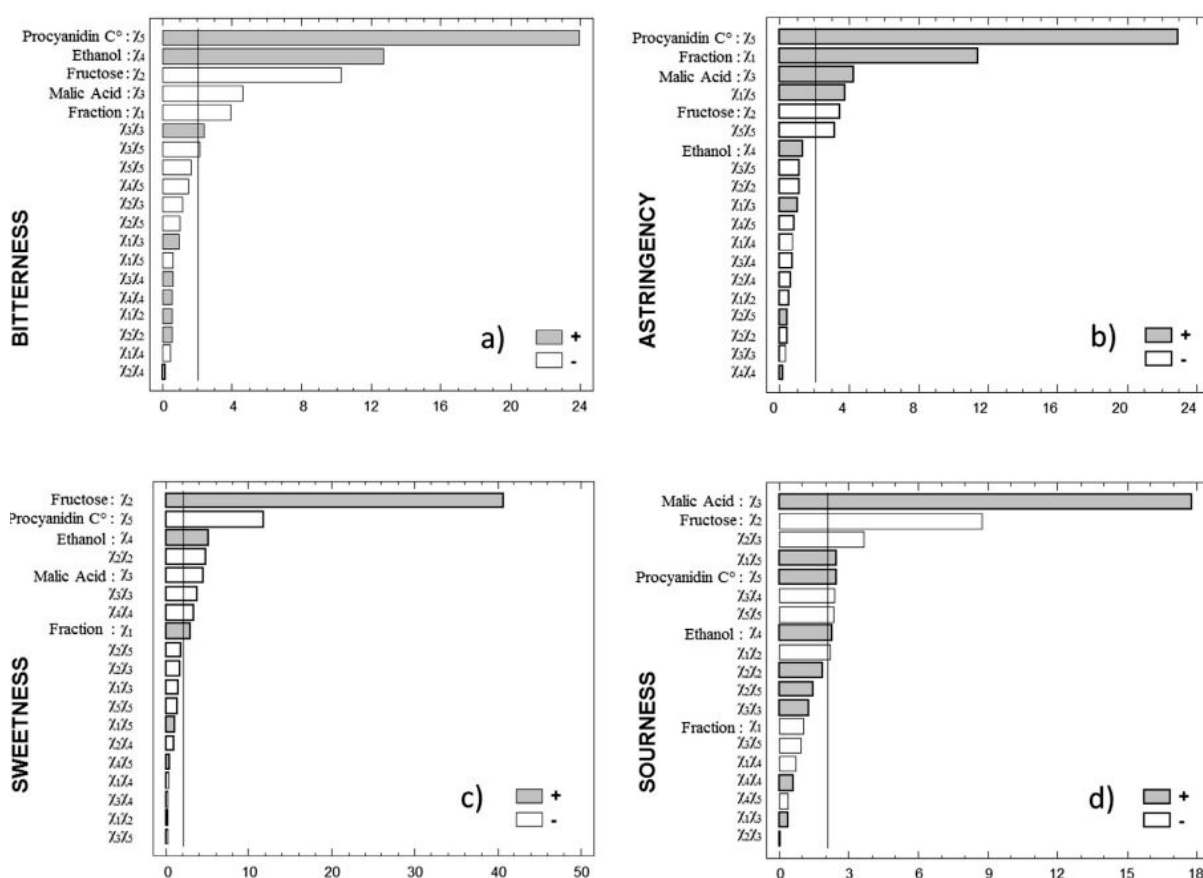


Figure 16 : Pareto charts showing the standardized effects of procyanidin fraction and concentration, fructose, acidity, ethanol content and interactions on (a) bitterness, (b) astringency, (c) sweetness, and (d) sourness. The color of the bar shows whether the effect is positive (gray) or negative (white) on the studied attribute. The vertical line indicates the lower limit of significance of the effects at a level of 5%.

First, procyanidins (fraction and/or concentration) greatly impacted bitterness, astringency, sweetness and sourness. The Pareto diagrams (Figure 16a and b) indicated a significant negative fraction effect χ_1 on bitterness and a positive one in the case of astringency. Fraction A, which had a higher average degree of polymerization, was significantly less bitter and more astringent than the

products formulated with Fraction B. This increase in astringency depending on the DP has been observed in cider and wine (Lea and Arnold, 1978, Peleg et al., 1999). The higher proportion of dimers and trimers in Fraction B could be the source of bitterness as observed in wine. Nevertheless, Symoneaux et al. (2014a,b) showed that a higher bitterness was obtained for tetramers and pentamers in solutions using apple procyanidins. As Fraction B was obtained by a process leading to a greater oxidation of procyanidins, it may contain a higher proportion of oxidized procyanidins that are not detectable by the HPLC procedure used. This would lead to an underestimation of the small DP in this fraction, which could impact the bitterness of samples.

In the present study, the type of fraction used had a slight impact on sweetness (Figure 16c) with Fraction B being less sweet than Fraction A. This result contradicts the conclusions of Symoneaux et al. (2014a,b) that DP does not influence this characteristic. In fact, working in the range of concentration encountered in cider modifies the way the sweetness-bitterness interaction occurs in cider. The modulation of sweetness by bitterness due to the profile of procyanidins is more efficient with more fructose and a high concentration of procyanidins in the solution. In the samples studied by Symoneaux et al. (2014a), the fructose content was low (8.3 g/L) and in both studies, the maximum procyanidin concentration tested was 750 mg/L. At these concentrations, it appeared that the influence of the procyanidin profile was not high enough to modify the sweetness perception. The procyanidin profile impacts the perceived sweetness at high procyanidin concentrations above 750 mg/L.

Independently of the type of procyanidins, the concentration of procyanidins χ_5 impacted the four attributes. The increase in bitterness and astringency (Figure 16a and b) has been observed many times (Arnold and Noble, 1978b, Lea and Arnold, 1978, Robichaud and Noble, 1990) but the increase in procyanidin concentration, as shown in Figure 16 c and d, also decreased sweetness and slightly increased sourness perception. At the same time, it is interesting to note an interaction between the fraction and procyanidin concentration for astringency and sourness. This interaction was observed for the first time by Symoneaux et al. (2014a) in model solutions with purified procyanidins. The present result confirms that the difference in astringency between low and high concentrations of small DP is smaller than that observed for low and high concentrations of high DP.

In addition to the primary effect of procyanidin concentration, the presence of ethanol χ_4 significantly increased the perception of bitterness while the presence of acid χ_3 and fructose χ_2 decreased it (Figure 16a). Although these effects appear statistically as main effects, they are likely to

be explained largely by the interaction between these factors and procyanidins: alcohol is known to promote the access of procyanidins to bitterness receptors (Chialva and Dada, 1990) while sugar and acid reduce bitterness, as observed in a model water solution by Brannan et al. (Brannan et al., 2001). Moreover, the impact of acid content was higher for high procyanidin concentrations. Nevertheless, procyanidin concentration was mainly responsible for the bitter sensations.

The astringency sensation was mainly due to procyanidins (χ_1 and χ_5), concentration and fraction (Figure 16b), but fructose and acidity also interacted to a lesser extent. Procyanidin concentration presented quadratic effects. When the model cider solution had a high procyanidin content, the increase was smaller than for a low concentration. This phenomenon is probably due to a psychophysical effect, by which tasters were close to saturation and perceived samples as very astringent but they found fewer differences between samples of high concentration. Acid content slightly increased astringency while fructose reduced it. In contrast to the wine literature (Fontoin et al., 2008), in the present study, ethanol had no impact on astringency, probably due to the low level of alcohol compared to that found in wine.

Sweetness (Figure 16c) was logically dependent on fructose content χ_2 and decreased when acidity χ_3 and procyanidin content χ_4 increased. Ethanol also increased the sweet sensation. The procyanidin profile of the two fractions, modified sweetness to a lesser extent. The quadratic effects observed for fructose, acid and ethanol were the results of a nonlinear evolution depending on their respective concentrations.

The perceived sourness (Figure 16d) was dependent not only on acid content but also on fructose, ethanol and procyanidin concentrations. Fructose decreased sourness but with a significant interaction between fructose and acid content ($\chi_2\chi_3$): the decrease in sourness due to fructose was larger for the highest acidity (5.04 g/L and pH = 3.43). Ethanol presented a slight increasing effect on sourness, which was only significant at low acidity. This result is in accordance with Zamora, Goldner, & Galmarini (2006) who observed the same behavior in wine for a low acidic solution but only when ethanol content rose from 4 to 14%. The present study indicates that, in cider, the smaller modulation of ethanol could modify the sourness of ciders with a low acid content and higher pH.

As mentioned previously, procyanidin concentrations modified sourness by reinforcement when polyphenol concentration increased. However, the procyanidin fraction characteristics appeared to modify slightly the impact of procyanidin concentration and of fructose on sourness. The decrease in

sourness due to fructose was greater for Fraction B generating a significant interaction $\chi_1\chi_2$. Simultaneously, the increase in the perceived sourness by polyphenol concentration was only observed for this fraction (data not shown) creating a second significant interaction $\chi_1\chi_5$. Symoneaux et al. (2014a) observed this impact of procyanidin concentration and fructose on sourness but without a significant interaction with the DP fractions studied. Nevertheless, the bitterest fraction was the sourest for high concentration of procyanidin but in a model solution with a low level of acidity, ethanol and fructose. In the present work, the impact of the variation of fructose and procyanidin concentration on sourness was greater for the bitterest fraction. This could be due to bitter-sour interactions as observed in water in which citric acid perception was increased by the presence of caffeine (Kamen et al., 1961) . In cider, the perception of acidity is a complex combination led by acid content but modulated by fructose, ethanol and procyanidin content in interaction with the amount of bitterness, thus depending on the procyanidin content and DP profile of the cider.

1.3.3.2 Calculation of predictive models

From this experiment, four models were built in order to predict the sweetness, sourness, bitterness and astringency of a solution based on the real value of each component concentration (Table 13). χ_1 being a qualitative factor remains coded A: 1 and B: -1. Only coefficients that were significant are presented. The R^2 coefficient is close to 1 for each predictive model, indicating that the model explained a large part of the variability of the experimental data.

1.3.3.3 External validation by a panel of professionals

Scores of the thirty-four professionals for each attribute were averaged per sample and then compared to the theoretical values obtained from the predictive model. Figure 17 presents the four graphs linking the predicted values from the models as a function of the average data obtained by the professional panel. R^2 and Root Mean Square Error of Prediction (RMSEP) are presented on each graph.

	Constant	X_1 Fraction	X_2 Fructose (g/L)	X_3 Malic acid (g/L)	X_4 Ethanol (%v/v)	X_5 Procyanidin conc. (mg/L)	X_1X_2	X_1X_5	X_2X_2	X_2X_3	X_3X_3	X_3X_4	X_3X_5	X_4X_4	X_5X_5	R ²
Bitterness	3.2412	-0.2139	-0.0349	-1.4808	0.3738	0.0066					0.1835		-0.0005			0.947
Astringency	-0.6371	0.1244	-0.0125	0.3515		0.0065		0.0007							-1.41E-06	0.935
Sweetness	-4.8052	0.1483	0.1738	1.8674	0.8620	-0.0019			-0.0006		-0.2613			-0.0779		0.945
Sourness	-6.5051	-0.0933	0.0422	2.6459	0.7149	0.0019	-0.0073	0.0004		-0.0170		-0.1477			-9.45E-07	0.889

Table 13 : Coefficients of the predictive models for bitterness, astringency, sweetness and sourness and calculated R².

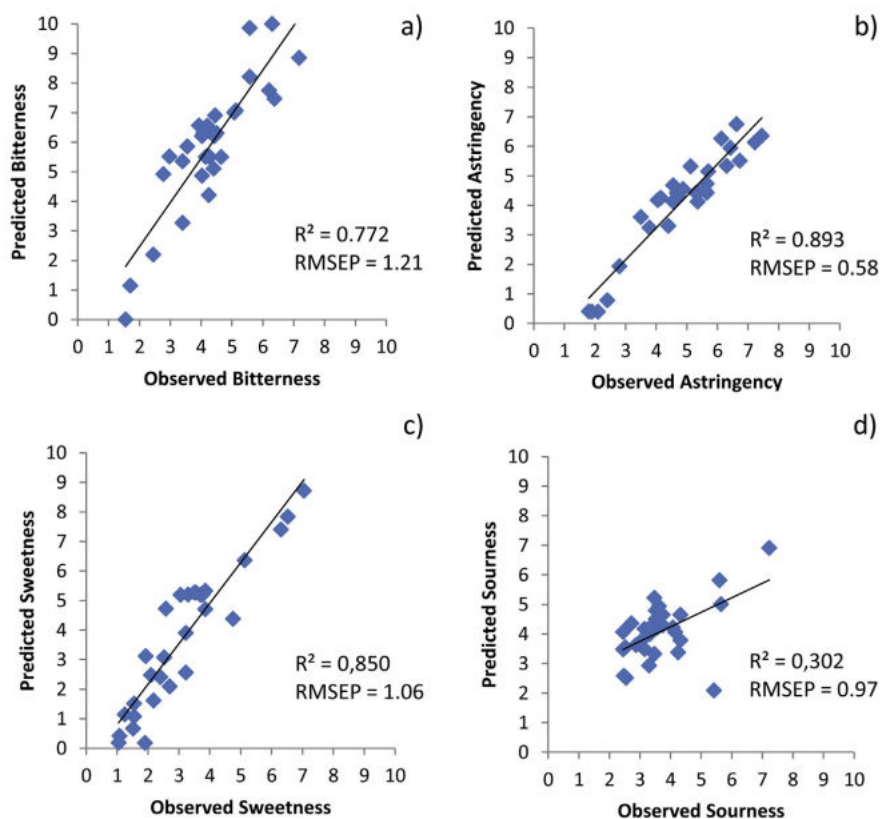


Figure 17 : Predicted values from models as a function of the averaged observed data from the professional panel for (a) bitterness, (b) astringency, (c) sweetness, and (d) sourness.

For bitterness, sweetness and astringency, the R^2 coefficient of the predicted data provided by the model and the average value from the professional panel was very high and significant (P -value < 0.0001). This result indicates a good correlation of the three predictive models. Nevertheless, these results should be relativized a little since the RMSEP is close to 1 for sweetness and bitterness. The results are better for astringency. This could be explained by the greater simplicity of the model, with only a direct effect and a quadratic effect for the main component, while for sweetness and bitterness, there are some interactions between the components and/or several quadratic effects at the same time, making the perception mechanism more complex.

The correlation coefficient R^2 for sourness was lower but significant (P -value = 0.0017) and the RMSEP was 0.97. It can be seen that the range of variation for the theoretical values is smaller than for the majority of the tasted samples (with a predicted sourness between 2.5 and 3.5), which could explain the lack of fit for this attributes. In fact, it was decided to present a large variation in terms of fructose, alcohol and polyphenol content, which meant that 2/3 of the tasted samples had the same acid content (3.3 g/L malic acid and pH of 3.94). Therefore, the variation in acidity was not large enough to validate the predictive model definitively.

1.3.4 Conclusion

The use of an experimental design enabled models to be built integrating the main components of cider (fructose, malic acid, ethanol, type and quantity of procyanidins) in cider-like model solutions. These models indicate how much each component impacts the main sensory characteristics (bitterness, sweetness, sourness and astringency) and can predict the organoleptic properties of ciders based on their compositions.

The external validation confirmed the models in terms of astringency, sweetness and bitterness. Complementary samples need to be tested to validate the model for sourness. The use of a second panel composed of professionals is an interesting strategy to validate a statistical model objectively. Being based on model solutions, these predictive models now have to be validated using commercial cider. The experimental domain focused on the chemical ranges encountered in French ciders. The results could be extended to ciders from other countries but with some precautions when chemical contents exceed the ranges studied in the present experiment, notably for cider with a high ethanol content. Besides, these models would have to be improved by integrating other parameters, such as the role of CO₂, aromatic profile or acid composition.

Synthèse de cette étude

La génération du plan d'expériences permet d'étudier simultanément les effets directs et quadratiques des composés principaux du cidre (fructose, acide malique, éthanol, concentration en procyanidines et profil de ces procyanidines) sur le goût sucré, l'acidité, l'amertume et l'astringence. Ce plan, plus complet que les deux précédents, met en exergue l'ensemble des interactions entre ces composés, qui se joue lors de la dégustation.

Il apparaît que chacun des composés mis en solution, aux concentrations observées dans le cidre, module fortement les quatre sensations étudiées. Le fructose renforce le goût sucré mais vient diminuer l'acidité, l'amertume et, dans une moindre mesure, l'astringence. La quantité d'acide (pH et acide malique) dirige l'acidité perçue mais vient également renforcer l'astringence et diminuer le goût sucré. L'amertume est également modifiée en fonction de la concentration en acide mais seulement pour les concentrations plus fortes en procyanidines. L'éthanol intervient également dans la perception de sensations étudiées. Il apporte de l'amertume et une sensation sucrée. Il est également responsable d'une légère augmentation de l'acidité perçue pour les solutions à faible concentration d'acide malique et pH plus élevé. Finalement, comme le montre la littérature, une augmentation de la concentration en procyanidines renforce significativement l'amertume et l'astringence des solutions. Elle conduit simultanément à une forte diminution de la perception sucrée et une légère augmentation de l'acidité en bouche. Le profil des polyphénols, quant à lui, intervient fortement dans l'astringence des cidres. Un degré de polymérisation moyen un peu plus fort conduit à une astringence plus marquée. Il est intéressant de noter que l'interaction entre le DP et la concentration en procyanidines se retrouve ici à nouveau. L'augmentation de l'astringence est beaucoup plus marquée pour une même augmentation de la concentration de la fraction présentant un DP_{moyen} plus fort. Par ailleurs, un DP_{moyen} plus faible peut conduire à une amertume un peu plus marquée et une légère diminution du goût sucré. Le DP_{moyen} intervient également dans la perception de l'acidité mais à travers des interactions avec le sucre et la concentration en procyanidines. En effet, seul l'acidité de la fraction présentant une amertume élevée a été modifiée par le fructose et la concentration en procyanidines.

Il est possible de faire une lecture de ces résultats en regardant quels composés modifient chaque sensation prise indépendamment. Ainsi, par exemple, le cidrier qui cherche à réduire son astringence

sait qu'il peut utiliser des techniques de cidrification qui diminuent la concentration en procyanidines ou réduisent le DP_{moyen} . Cependant, il devra intégrer que ses choix impacteront également l'amertume. Il peut également jouer sur les équilibres sucre/acide, en gardant suffisamment de sucres résiduels dans le cidre ou en choisissant des variétés ou un assemblage réduisant l'acidité. Dans tous les cas, les résultats de ce plan d'expériences, montre qu'agir sur un composé chimique pour moduler une saveur a dans la plupart des cas des répercussions sur les autres saveurs.

La validation des modèles prédictifs issus de ce plan d'expériences a été réalisée avec des professionnels de la filière cidricole. Cette dégustation a été également l'occasion de sensibiliser une quarantaine de professionnels sur le rôle des différents composés chimiques sur la perception et les équilibres gustatifs dans le cidre. L'utilisation des modèles a permis de construire un plan de formation original à cette occasion. En effet, grâce aux valeurs théoriques sortant des modèles, nous leur avons montré que des compositions chimiques très différentes peuvent conduire au même niveau d'intensité de perception d'un attribut sensoriel donné (la perception des autres attributs bougeant par ailleurs).

Chapitre 2. **Sur l'impact du dioxyde de carbone (CO₂) en relation avec les autres composés sapides (sucres, acide, alcool et procyanidines)**

Les résultats du chapitre I ont été développés, pour des raisons pratiques, dans des solutions sans effervescence. L'hypothèse était faite que l'impact du CO₂ sur les quatre sensations étudiées serait négligeable, ou du moins ne remettrait pas en cause les résultats observés dans les solutions sans gaz.

Nous avons construit une expérimentation pour valider cette hypothèse et étudier l'impact du CO₂ sur la perception gustative dans les solutions modèles. Pour ce faire, nous avons construit un plan d'expériences mettant en œuvre huit solutions modèles avec du fructose, de l'acide malique, de l'éthanol et des procyanidines présentées avec et sans ajout de dioxyde de carbone.

Impact of CO₂ and its interaction with the matrix components on sensory perception in model cider

Symoneaux, R. ^{a*}, Le Quéré, J.M. ^b, Baron, A. ^b, Bauduin, R. ^c, Chollet, S. ^d

^a Groupe ESA, UPSP GRAPPE, SFR QUASAV 4207, 55 rue Rabelais, F-49007 Angers, France.

^b INRA, UR 1268 Biopolymères Interactions Assemblages, Domaine de la Motte, F-35650 Le Rheu, France.

^c IFPC, Domaine de la Motte, F-35 650 Le Rheu, France.

^d ISA Lille, Institut Régional agroalimentaire Charles Viollette 1026, 48 boulevard Vauban F-59046 Lille, France.

Abstract

The impact of carbon dioxide and its interactions with fructose, acidity, polyphenol content and ethanol in model solutions of cider were investigated. Eight samples, with and without CO₂ addition, were presented to a trained panel. Four sensory characteristics (bitterness, astringency, sweetness and sourness) were studied. Bitterness was not modified in the presence of CO₂ while astringency increased. Sweetness decreased but only for samples with a higher sugar content. Finally, when samples contained gas, the difference in sourness was smaller between the two levels of acidity tested. The results also gave some indication of the way fructose, acid, polyphenols and ethanol contribute to the sensory characteristics of cider.

Key words: Flavor, Chemical Interaction, Carbon dioxide, Trained panel, Ciders

Soumis à publication dans LWT – Food Science and Technology le 27 janvier 2015 (Under Review)

Introduction

French cider is a sparkling alcoholic beverage resulting from the fermentation of apple must. The quality of cider flavor, and particularly taste (sweetness, sourness, bitterness) and astringency, is a major issue for producers, who are looking for a better understanding of the role of each chemical constituent in these sensory mouthfeel perceptions. Recently, several works have been devoted to this topic (Symoneaux et al., 2014a, Symoneaux et al., 2014b, Symoneaux et al., 2015a) completing the study of Lea & Arnold (1978) focusing on the bitterness and astringency of model cider solutions. These four works identified the effect of sugar, ethanol, acidity and polyphenols (in concentration and depending on the type of procyanidins) on the sensory mouthfeel perception. Nevertheless, these authors worked on model solutions without including the sparkling components of cider due to the presence of CO₂. In cider, the studies concerning CO₂ relate to the visual properties of foam and bubbles (Suárez Valles et al., 2008, Picinelli Lobo et al., 2005). None mentions the interaction between CO₂ and cider chemical components although there is much evidence indicating that carbon dioxide could modulate taste and astringency in different matrices (Saint-Eve et al., 2010, Saint-Eve et al., 2009).

Several studies have shown that carbonation leads to a decrease in sweetness (Cowart, 1998, Passe et al., 1997, Hewson et al., 2009, Saint-Eve et al., 2010, Le Calvé et al., 2008, Thuillier, 2007, Clark et al., 2011) but this decrease is concentration-dependent. For example, Thuillier (2007) observed a significant effect of CO₂ on this attribute but only at 18 g/L and not at 9 g/L or 36 g/L. Cometto-Muniz, Garcia-Medina, Calvino, & Noriega (1987) obtained contradictory results depending on the sucrose and CO₂ concentrations used.

Concerning acidity, carbon dioxide generates an increase in perceived sourness. This is due to the presence of carbonic acid, formed by the dissociation of CO₂ in solution (Cowart, 1998, Hewson et al., 2009, Saint-Eve et al., 2010, Le Calvé et al., 2008, Thuillier, 2007, Cometto-Muniz et al., 1987). However, here again, the modulation of taste by CO₂ appears to be concentration-dependent. Firstly, it depends on the concentration of CO₂. Lederer, Bodyfelt, & McDaniel (1991) reported a significant increase in acidity only when the carbon dioxide concentration was over 2 Vol. Secondly, the acid concentration seems to impact the role of CO₂ in sourness; at high acidity content, the presence of CO₂ did not lead to a significant increase in sourness (Thuillier, 2007).

The impact of CO₂ on bitterness also appears to be concentration-dependent. Some authors found a decrease in bitterness with CO₂ in beer but only over 300 µL/L of hop acid with an increased bitterness up to 150 µL/L (Clark et al., 2011). Cometto-Muniz et al. (1987) observed a similar effect on quinine sulfate solution with an increase in bitterness for low concentrations and a decrease for high concentrations. Thuillier (2007) reported a decrease in the bitterness of quinine sulfate due to CO₂ in a model wine solution but no effect on the bitterness of tanins in wine. For other authors, such as Cowart (Cowart, 1998) with quinine sulfate, CO₂ had no impact on bitterness. Thus, it seems that the effect of CO₂ on bitterness is also dependent on the bitter compounds.

Finally, the carbonation of a solution leads to an increase in astringency (Hewson et al., 2009, Thuillier, 2007), probably generated by the fall in pH (François et al., 2006, Fontoin et al., 2008). However, this increase appears to be dependent on polyphenol concentration. An increase in astringency was observed for a low concentration of hop acid but a decrease in its perception was obtained at 600 µL/L of hop acid (Clark et al., 2011).

From the literature, it is clear that CO₂ impacts taste and astringency. However, this phenomenon is dependent on the type and concentration of the different chemical compounds in the product thus it is not possible to generalize the results. An understanding of the CO₂ effect in a specific matrix needs a specific focus to include the range of concentration observed in this product and the specificity of the chemical compounds within it.

The aim of the present work was to evaluate the role of carbon dioxide in the perception of sweetness, sourness, bitterness and astringency in a model cider solution containing the main constituents of cider: fructose, malic acid, ethanol, and apple polyphenols.

2.1.1 *Materials and Methods*

2.1.1.1 Model cider solution and experimental design

A water solution was used with added ethanol, fructose and malic acid (the main sugar and acid in cider) and polyphenol. A half-fractional factorial design was established with the CO₂ factor (called A) with two levels (absence or presence), three factors (B: Fructose, C: Acidity (malic acid and pH) and

D: Ethanol) with two levels (low and high) and one factor (called E) with four levels corresponding to four concentrations of polyphenols. Since the main subject of this work was the CO₂ impact and its interactions with sugar, acid, ethanol and procyanidin concentrations, the CO₂ factor was crossed with a combination of the four other factors as presented in Table 14. The experimental design thus comprised sixteen samples. This enabled the main effect of CO₂ (A) and its interaction with the other components AB, AC, AD and AE to be studied. The other four main effects were aliased with other interactions.

Table 14 : Experimental design and sensory results

Sample	A: CO ₂	B: Fructose	C: Acidity	D: Ethanol	E: Polyphenol	CO ₂	Fructose (g/L)	Malic acid (g/L)	pH	Ethanol (%VOL)	Polyphenol extract (g/L)	Sweetness	Sourness	Bitterness	Astringency
S_01	-1	-1	-1	-1	x1	Without	20	3.3	3.94	2.7	0	2.22 ^d	1.83 ^{fg}	0.58 ^c	0.47 ^g
S_02	-1	-1	1	-1	x2	Without	20	5.04	3.48	2.7	0.83	1.28 ^d	4.76 ^a	2.69 ^{cd}	2.43 ^{bcde}
S_03	-1	-1	-1	1	x3	Without	20	3.3	3.94	5.7	1.67	1.55 ^d	1.89 ^{efg}	5.45 ^a	2.05 ^{cddef}
S_04	-1	-1	1	1	x4	Without	20	5.04	3.48	5.7	2.5	1.34 ^d	3.55 ^{abc}	5.28 ^{ab}	3.78 ^{ab}
S_05	-1	1	-1	-1	x4	Without	60	3.3	3.94	2.7	2.5	5.32 ^{abc}	0.91 ^g	3.63 ^{bc}	2.58 ^{bcd}
S_06	-1	1	1	-1	x3	Without	60	5.04	3.48	2.7	1.67	6.46 ^a	2.48 ^{cd}	2.05 ^{cde}	1.98 ^{cd}
S_07	-1	1	-1	1	x2	Without	60	3.3	3.94	5.7	0.83	6.78 ^a	1.55 ^{fg}	2.75 ^{cd}	1.68 ^{cd}
S_08	-1	1	1	1	x1	Without	60	5.04	3.48	5.7	0	6.17 ^{ab}	3.39 ^{abcde}	1.65 ^{de}	0.75 ^{fg}
S_09	1	-1	-1	-1	x1	With	20	3.3	3.94	2.7	0	1.33 ^d	1.97 ^{defg}	1.61 ^{de}	1.13 ^{efg}
S_10	1	-1	1	-1	x2	With	20	5.04	3.48	2.7	0.83	1.54 ^d	4.37 ^{ab}	2.99 ^{cd}	1.91 ^{cd}
S_11	1	-1	-1	1	x3	With	20	3.3	3.94	5.7	1.67	1.64 ^d	2.85 ^{bcdef}	5.21 ^{ab}	3.01 ^{abc}
S_12	1	-1	1	1	x4	With	20	5.04	3.48	5.7	2.5	1.19 ^d	3.48 ^{abcd}	6.32 ^a	4.36 ^a
S_13	1	1	-1	-1	x4	With	60	3.3	3.94	2.7	2.5	4.65 ^{bc}	1.65 ^{fg}	3.25 ^{cd}	2.82 ^{bcd}
S_14	1	1	1	-1	x3	With	60	5.04	3.48	2.7	1.67	4.56 ^c	2.13 ^{cd}	2.45 ^{cd}	2.06 ^{cd}
S_15	1	1	-1	1	x2	With	60	3.3	3.94	5.7	0.83	5.62 ^{abc}	1.81 ^{fg}	2.27 ^{cd}	2.09 ^{cd}
S_16	1	1	1	1	x1	With	60	5.04	3.48	5.7	0	5.55 ^{abc}	2.21 ^{cd}	1.70 ^{de}	1.52 ^{defg}

Different lower case letters represent significant differences (p<0.05) between sample averages according to the Student Neuman-Keuls (SNK) test

The concentrations of each compound were selected to fall within the range found in commercial French ciders. A large database of 90 products (Le Quéré et al., 2006) was used to determine the low and high levels of fructose, malic acid and ethanol. Fructose was fixed at two levels: 20 g/l and 80 g/l, while ethanol was added at 2.7 %Vol and 5.7 %Vol. For the acid compounds, it was decided to combine malic acid concentration and pH. The low level of acidity was fixed at 3.3 g/L malic acid and a pH of 3.94 while the high level was 5.04 g/L and a pH of 3.48. The pH was obtained by buffering with a KOH solution since potassium is the main mineral in cider. Finally, the procyanidin level was obtained using a commercial apple polyphenol extract from the Val-de-Vire BioActives Company. This extract contained 33% of procyanidins with an average degree of polymerization of 2.4. Four

levels were studied: the highest level was 2.5 g/L of polyphenol extract corresponding to 750 mg/L of procyanidins as used by Symoneaux et al. (2014b) and the three other levels were 0 g/L, 0.83 g/L and 1.67 g/L.

2.1.1.2 Carbonation of samples

The model cider solutions were carbonated in a 20-L device including a Millipore tank, a pump (rotating gears Micropump®) and a venturi, the depression pipe of which was connected with the atmosphere of the tank. The solutions (15 L) were carbonated by pumping CO₂ through the venturi for 20 min at 10 °C under a pressure of 2.2 bar of carbon dioxide, dissolving 5 g/L of CO₂ in the solution.

2.1.1.3 Sensory evaluation by a trained panel

2.1.1.3.1 Panel composition and training

The sensory panel was composed of thirteen paid assessors from the Ecole Supérieure d'Agriculture (four men and nine women aged from 20 to 68 years old). They were recruited specifically for previous experiments on the sensory characterization of procyanidins in a model cider (Symoneaux et al., 2014a, Symoneaux et al., 2014b, Symoneaux et al., 2015a). The sensory attributes on which panelists were trained were sourness, sweetness, bitter tastes and astringency. For the training period, the quantity of the final polyphenol extract was limited. For this reason, the training was adapted and developed with the use of another apple polyphenol extract with a similar composition (PA 230 Val-de-Vire BioActives, France). This extract containing 38% of procyanidins was used up to a maximum concentration of 2 g/L to give a maximum concentration of 750 mg/L of procyanidins in the samples used for training.

Before the characterization of the sixteen samples, panelists had around 50 h of training on the sensory characterization of polyphenols in water and in model solutions without CO₂. Concentrations of fructose, malic acid, ethanol and commercial polyphenol extract used for training were those specified in the experimental design samples. They also evaluated some commercial ciders in order to assess some products with CO₂ before the experiments. Nevertheless, they were not informed

about the aim of the study and CO₂ perception was not included so that the focus was only on the four studied attributes.

2.1.1.3.2 Tasting conditions and sample presentation

Tasting took place in individual computerized booths according to NF ISO 8589 norms, in a sensory room at 21 °C +/- 1 °C under red light to limit the perception of color. Cleansing between samples was done with mineral water (Evian) and a low-salt biscuit (Les Crackers Nature, Heudebert).

Bottles were opened at the beginning of the session and were closed between each glass service. 4 cl was carefully served in an 8 cl glass, limiting shaking. The sixteen samples were divided into two subsets corresponding to the series of samples with and without CO₂. Half of the tasters began with the products with CO₂ and ended with the samples without while the other half received the samples in the opposite order. Inside each subset, the eight samples were presented in a sequential monadic way and their order was based on a William Latin-square arrangement. Scores were collected by FIZZ (version 2.10; Biosystems, Courtenon, France). Tasters were informed that some samples had bubbles but without further explanation so as not to focus their attention on this particular point.

2.1.1.4 Data analysis

All data analyses were carried out using Statgraphics Centurion XVI. First, a two-way ANOVA was performed, with Sample as the fixed effect and Judge as the random one, to validate the ability of the panel to distinguish the sixteen samples. Then, the mixed factorial experimental design was analyzed. A variance analysis per attribute was done in order to determine which main effects and interactions were significant. Then, standardized Pareto diagrams were drawn for each attribute. These display several statistics as histograms where each bar is proportional to the absolute value of its standardized effect.

2.1.2 Results and Discussion

The Judge and Sample factors studied by variance analysis were significant for the four attributes. Despite a significant Judge effect (data not shown), the sixteen samples were significantly differentiated. The post-hoc analysis in Table 14 confirmed differences between the samples.

Table 15 presents the p-values for each main factor of the experimental design and the interactions between CO₂ and other constituents. Bitterness was significantly modified by fructose, ethanol and polyphenol concentration. Apart from acid content (p = 0.065), the other four factors influenced the perception of astringency. Sweetness perception was modified by fructose concentration, the presence of CO₂ in the solution and polyphenol content. An interaction between fructose and CO₂ was also observed on sweetness. Finally, only acid content and fructose modified sourness perception with an interaction between CO₂ and acid content.

Table 15 : Probability levels of significance for the main effects and interactions

Factors	Bitterness	Astringency	Sweetness	Sourness
A: CO ₂	0.387	0.047	0.006	0.955
B: Fructose	0.000	0.023	0.000	0.000
C: Acidity	0.845	0.065	0.570	0.000
D: Ethanol	0.000	0.017	0.173	0.758
E: Polyphenol	0.000	0.000	0.023	0.567
AB	0.204	0.904	0.046	0.566
AC	0.345	0.392	0.906	0.044
AD	0.617	0.155	0.456	0.930
AE	0.832	0.853	0.769	0.190

2.1.2.1 Bitterness

Figure 18a is the standardized Pareto diagram for bitterness. The polyphenol concentration was the main factor positively modifying bitterness perception. The more polyphenols there were in the solution, the bitterer the sample was. In addition, ethanol enhanced the bitterness whereas fructose

reduced it. This impact of polyphenol, and more precisely procyanidin, concentration has been clearly identified in cider as well as the enhancement by ethanol (Lea and Arnold, 1978, Symoneaux et al., 2014b, Symoneaux et al., 2015a). Moreover, the suppressive effect of sugar, which leads to a decrease in bitterness in the presence of fructose, has been reported in numerous matrices (Keast and Breslin, 2003, Calviño et al., 1993, Lyman and Green, 1990, Keast, 2008, Hewson et al., 2009, Burns and Noble, 1985, Panovska et al., 2008).

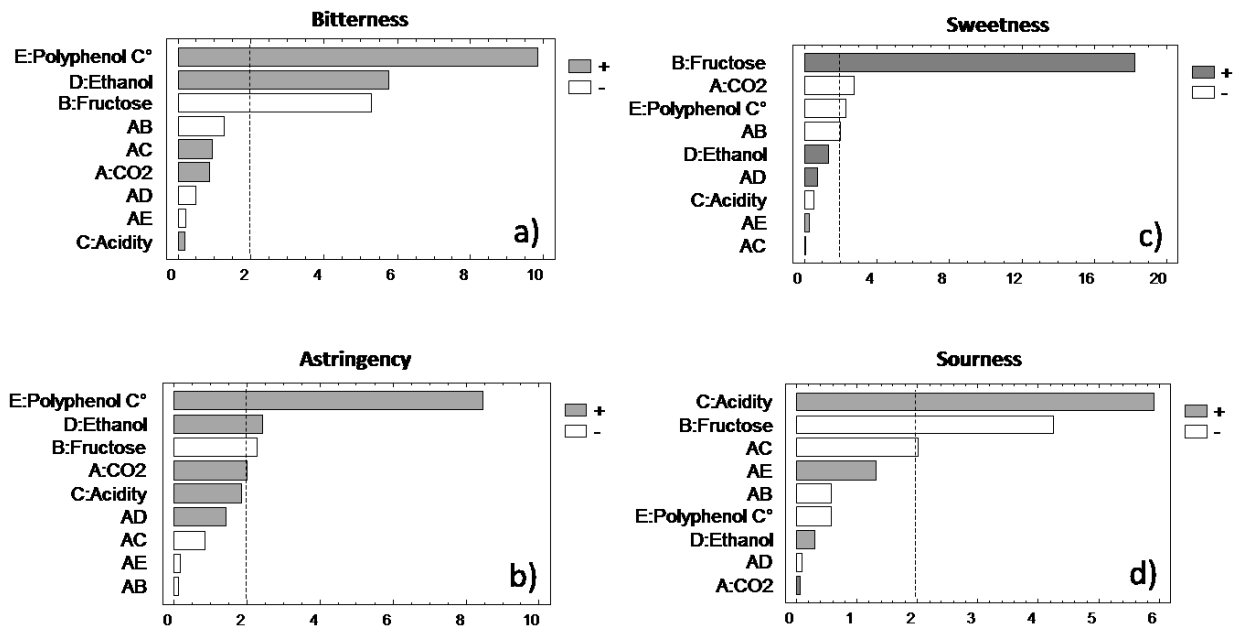


Figure 18 :Pareto charts showing the standardized effects of the CO₂ , fructose, acidity, ethanol content, polyphenol content and interactions on (a) bitterness, (b) astringency, (c) sweetness, (d) sourness. The color of the bar shows whether the effect is positive (gray) or negative (white) on the studied attribute. The vertical line indicates the lower limit of significance of the effects at a level of 5%.

At the tested concentration, CO₂ had no impact on this bitterness due to polyphenols and enhanced by ethanol. The interaction observed by Clark et al. (2011) and Cometto-Muniz et al. (1987) between CO₂ and bitter compounds, such as hop acids and quinine sulfate, did not occur in the present experiment in the wide range of polyphenol and ethanol concentrations studied.

2.1.2.2 Astringency

Figure 18b is the Pareto diagram for astringency. This characteristic was highly related to the concentration of procyanidins as previously reported by numerous authors (Lea and Arnold, 1978,

Breslin, 1996, Vidal et al., 2004a, Robichaud and Noble, 1990). Thus, in the present conditions, ethanol content increased the astringency, whereas fructose reduced it. The decrease in astringency by fructose has been described by several authors as a consequence of the increase in viscosity (Lyman and Green, 1990, Ishikawa and Noble, 1995, Valentová et al., 2002). However, the increase due to ethanol is more surprising since no authors have observed this result. In fact, a decrease in astringency by ethanol (Fontoin et al., 2008, Vidal et al., 2004a) or no impact (Noble, 1998, Valentová et al., 2002) are generally reported, notably in cider. Since such an effect was not observed in the last two works on cider interactions with similar chemical compositions (Symoneaux et al., 2014b, Symoneaux et al., 2015a), we hypothesize that this particular result is due to the statistical alias between Ethanol and the interaction Fructose x Procyanidins in the experimental design.

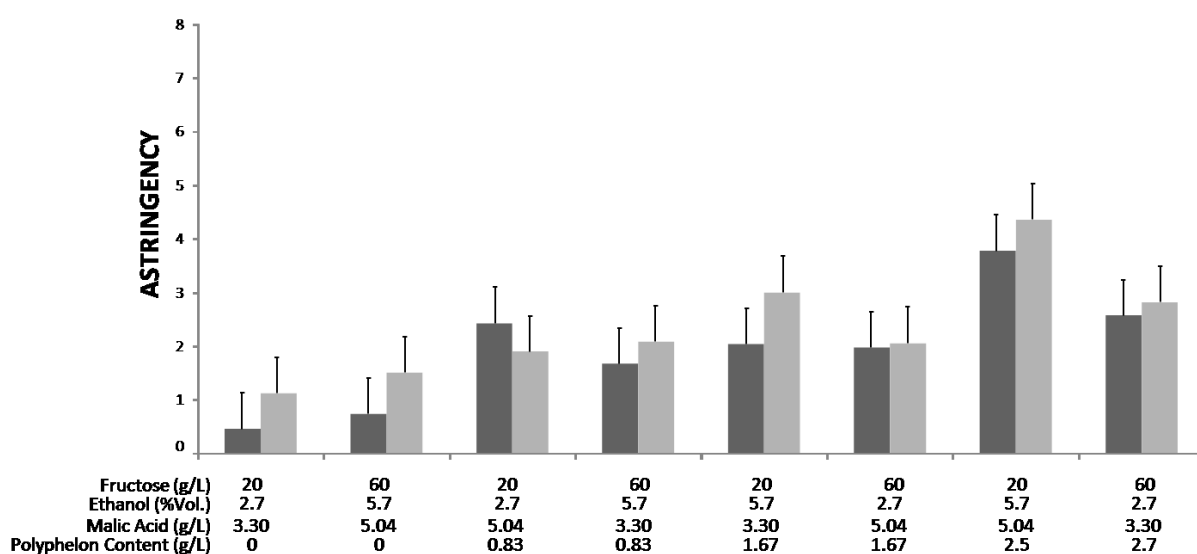


Figure 19 :Astringency measured for each sample without or with CO₂. Error bars correspond to SD values.

Finally, CO₂ increased astringency to a lesser extent. Figure 19 shows the averaged data for each product with and without CO₂. The presence of CO₂ increased the perceived astringency to a varying degree. The decrease in pH due to the dissociation of CO₂ leads to this increase in astringency (Hewson et al., 2009, Thuillier, 2007). The two samples without polyphenols presented a very low astringency, which was reinforced by CO₂. This slight increase in astringency observed for samples without polyphenols could be due to a reinforcement of the astringent component of malic acid since organic acids vehicle astringency by themselves (Kallithraka et al., 1997c, Lee and Lawless, 1991).

2.1.2.3 Sweetness

As shown on the Pareto diagram (Figure 18c), fructose was logically the main factor modifying sweetness. Nevertheless, CO₂ influenced significantly and negatively the perceived sweetness with an interaction between CO₂ and fructose factors that was also significant. This interaction can be observed on the interaction plot for sweetness (Figure 20a). It presents the average value with and without CO₂ for products with a low level of fructose (20 g/L) and those with a high level (60 g/L). When samples had a low sugar content, the perceived sweetness was not significantly modified by gas and samples were perceived slightly sweet. In contrast, for samples with 60 g/L, even if they were perceived significantly sweeter, those with CO₂ were significantly less sweet than their homolog without gas. The decrease in sweetness by CO₂ generally observed in several matrices (Cowart, 1998, Passe et al., 1997, Hewson et al., 2009, Saint-Eve et al., 2010, Le Calvé et al., 2008, Clark et al., 2011) is, in the present experiment, concentration-dependent. This result is in accordance with Thuillier (2007) who noticed this interaction but, in his study, the decrease was only significant for 18 g/L of saccharose and not for 36 g/L. Here, we observed a significant decrease at 60 g/L of fructose, probably due to the more complex composition of the matrix with ethanol, polyphenols and acid, which also modulate the perceived sweetness and other sensations.

In addition, in the present conditions, the samples with more procyanidins were a little bit less sweet than samples with low polyphenol contents (data not shown) as commonly reported in works on cider and wine (Lyman and Green, 1990, Symoneaux et al., 2014a, Symoneaux et al., 2015a). Finally, acidity surprisingly had no impact on the perceived sweetness, despite the well-known suppressive effect of acid on sweetness (Pelletier et al., 2004, Zamora et al., 2006, Le Calvé et al., 2008). The use of a half-fractional experimental design could be the explanation of this particular result, since the acid content effect was aliased with two interactions.

2.1.2.4 Sourness

As shown on the Pareto diagram (Figure 18d), acid content and fructose influenced the perceived sourness positively and negatively, respectively. The CO₂ effect on sourness was not significant unlike the interaction between CO₂ and acid content. Figure 20b represents this interaction. Although the samples with a high acidity content were always perceived sourer than low acidity samples, the difference in acidity was largely greater between samples without gas than with gas. Besides, it appeared that for low acidity, the presence of CO₂ slightly increased the perceived sourness while at

high acidity it decreased slightly with CO₂. Thuillier (2007) indicated that the impact of CO₂ on perceived sourness was less significant at high acid content. This author, working on the sourness of wines, noted that CO₂ seemed to bring closer those wines that had very different acid compositions. The increase in sourness is explained in the literature by the presence of H₃O⁺ ions due to CO₂ dissociation in solution. This could account for the present increase in sourness for low acidity samples. Concerning the high level of acidity, no suppressive effect of sourness by CO₂ was expected.

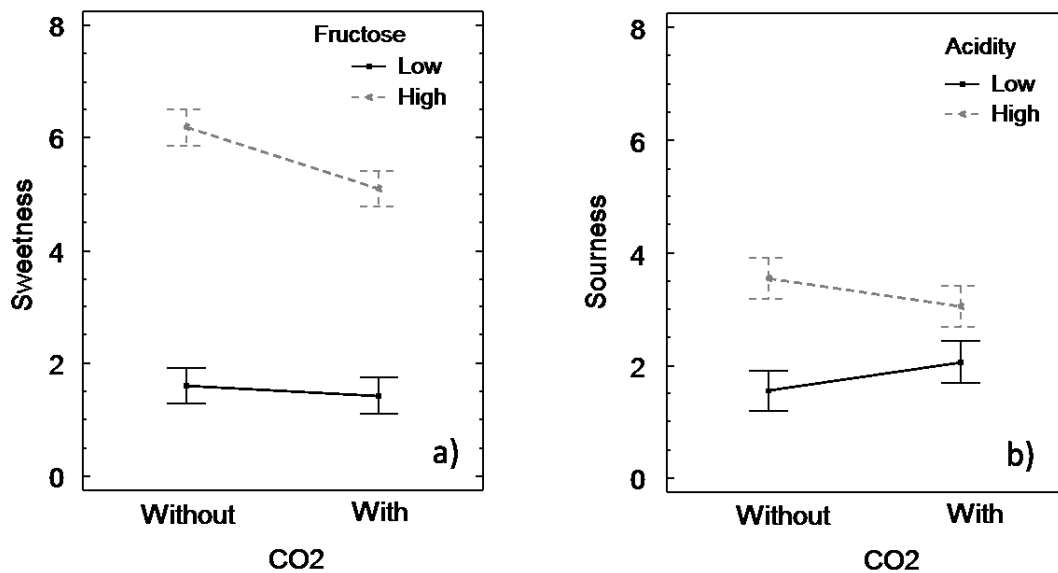


Figure 20 : Interaction plot between a) CO₂ and sugar content on sweetness and b) CO₂ and acidity content on sourness. Error bars correspond to LSD values.

2.1.3 Conclusion

The study of the impact of carbon dioxide on bitterness, astringency, sweetness and sourness in a model cider solution was the aim of the present work. A half-fractional design was used for this purpose.

The addition of CO₂ to the model solution modified three of the four perception attributes studied. Sweetness decreased but more at high sugar concentration (60 g/L). Sourness increased but only at low acidity (pH=3.94), whereas it decreased at high acidity (pH=3.48). Astringency increased overall with the presence of CO₂ but bitterness was not modified. Despite the presence of CO₂, tasters were able to perceive sensory differences between the samples.

The concentration of CO₂ and the foam and bubble properties were not the topic of this work. Nevertheless, these can vary in cider from one product to another depending on the fermentation process and cider composition (Ribéreau-Gayon et al., 2004, Blanco-Gomis et al., 2010, Picinelli Lobo et al., 2005, Gallart et al., 2004). Further work will be needed to understand better the role of CO₂ in cider perception taking into account different levels of carbonation, the origin of the CO₂ (gasification, secondary fermentation in the bottle, etc.) and its interaction with chemical composition.

Synthèse de cette étude

L'objectif de ce plan d'expériences était de mesurer l'impact du CO₂ sur les caractéristiques gustatives de solutions modèles composées de sucre, d'acide malique, d'éthanol et de procyanidines mis en solution dans des concentrations proches du cidre.

Il apparaît que la présence de CO₂ n'a pas d'impact sur l'amertume mais augmente légèrement l'astringence des solutions par une acidification de la solution. Le goût sucré diminue en présence de CO₂ mais seulement pour les échantillons avec une concentration plus forte de fructose (60 g/L). Enfin, par l'ajout de CO₂, l'augmentation de l'acide carbonique aurait dû conduire à une augmentation de l'acidité perçue dans les échantillons. Celle-ci se vérifie pour les solutions avec un niveau d'acide malique bas et un pH initial de 3,94. En revanche, les échantillons ayant un pH initial de 3,48 avant ajout de CO₂ voient leur acidité diminuer. Il semble que les dégustateurs aient plus de difficulté à percevoir l'acidité en présence de gaz.

De ces résultats, il est possible de conclure que les résultats obtenus dans le chapitre I avec des solutions modèles sans CO₂ ne seront fondamentalement pas remis en cause par le dioxyde de carbone présent dans le cidre. L'amertume n'est pas modifiée et l'astringence augmente globalement. Par contre, pour le goût sucré et l'acidité, on constate que la présence du CO₂ réduit les écarts perceptibles entre les échantillons. Cependant, si les dégustateurs font moins de différences cela ne contredit les résultats en matière de classement.

Chapitre 3. **Sur les interactions arômes- saveurs dans le cidre**

Les expérimentations précédentes sur l'impact des procyanidines, du fructose, de l'acidité, de l'éthanol et du CO₂ sur le goût sucré, l'acidité, l'amertume et l'astringence ont été menées dans des solutions modèles. Ce choix permettait de mieux maîtriser les paramètres étudiés et de pouvoir les analyser de manière indépendante. En effet, dans des cidres commerciaux, les composés chimiques sont souvent dépendants les uns des autres pour des raisons technologiques (*i.e.* le sucre et l'alcool) ou d'équilibre gustatif (*i.e.* une forte acidité compensée par du sucre). Cette colinéarité entre certaines variables complique l'étude des interactions dans un espace produit réel.

L'étude de l'impact des arômes sur la saveur du cidre aurait pu se faire également dans des conditions modèles par ajouts dosés de molécules aromatiques. Cependant, nous avons décidé de travailler à partir de cidres commerciaux choisis pour présenter une diversité organoleptique de saveurs et d'arômes. En effet, il nous a semblé intéressant de travailler sur des produits réels pour intégrer des stimuli aromatiques plus naturels que ceux apportés par une molécule ou un pool de molécules.

Could cider aroma modify cider mouthfeel properties?

Ronan Symoneaux¹, Hugues Guichard², Jean-Michel Le Quéré³, Alain Baron³, Sylvie Chollet⁴

¹ Groupe ESA, UPSP GRAPPE, SFR QUASAV 4207, 55 rue Rabelais, 49007 Angers, France.

² Institut Français des Productions Cidricoles, Domaine de la Motte, 35650 Le Rheu, France.

³ INRA, UR1268 BIA- Polyphenols, Reactivity, Processes, Domaine de la Motte, 35650 Le Rheu, France.

⁴ ISA Lille, Institut Régional Agroalimentaire Charles Viollette 1026, 48 boulevard Vauban, 59046 Lille, France.

Abstract

The objective of this work was to evaluate whether aroma-taste interactions could occur in cider due to cognitive interactions such as a dumping effect or a congruency phenomenon. Sixteen French ciders were selected with different organoleptic characteristics. Three different tasting conditions were compared in order to evaluate the presence of aroma interactions with taste. A trained panel was first asked to assess ciders, with and without a nose clip, on four attributes: sweetness, sourness, bitterness and astringency. Secondly, they had to score the same four attributes with seven aroma attributes added. It was shown that the perception of sweetness and astringency was modified in the presence of aroma. Ciders with fruity and caramel aromatic notes were perceived sweeter contrary to ciders with hay, animal and earthy notes, which were perceived less sweet. Moreover, the aroma interaction with sweetness was sugar concentration-dependent. It occurred only in cider containing around 40 g/L of sugar. Finally, ciders were perceived more astringent when tasted without wearing a nose clip.

Keywords: Flavor interaction; Congruency; Cognitive interaction; Trained panel; Beverage

Soumis à publication dans Food Quality and Preference le 23 décembre 2014, Accepté avec modifications majeures le 28 janvier 2015, Ressoumis le 20 février 2015.

3.1.1 Introduction

Cider is a slightly alcoholic beverage resulting from the fermentation of apple must. The main chemical constituents are water, ethanol, sugars (principally fructose), organic acids (principally malic acid), polyphenols and aromatic compounds (Lea and Drilleau, 2003). Mastering the quality and the regularity of production needs a better understanding of the way cider components interact to construct the final sensory characteristics of cider flavor. Although the interactions in this matrix between sugars, acids, ethanol and procyanidins impacting sweetness, sourness, bitterness and astringency are documented (Symoneaux et al., 2014a, Symoneaux et al., 2014b, Lea and Arnold, 1978), the impact of the aromatic fraction on cider taste has not been reported in the literature.

Interactions between taste and aroma are mainly investigated in model solutions, as reviewed by Poinot, Arvisenet, Ledauphin, Gaillard, & Prost (2013). Fewer works are dedicated to this topic in real food products and beverages. Model solutions are preferred because they are easier to parameter, even though some authors have concluded that these interactions are matrix- and concentration-dependent. This means that if producers want to understand the consumer perception of their products better, they need to study their own sensory product space to confirm whether such interactions occur.

There is some evidence that aroma can modify taste by physicochemical and cognitive interactions, including the dumping effect and congruency (Valentin et al., 2006, Keast and Breslin, 2003). Although gustation and olfaction are two anatomically and physiologically different entities, numerous examples indicate strong interactions between both inputs at the perceptual level (Delwiche, 2004, Lim et al., 2014). Therefore, a taste could be perceived more intense if presented simultaneously with a congruent aroma.

For example, many studies report the enhancement of sweetness by “fruity” notes, which are associated with a sweet component by consumers (Boakes and Hemberger, 2012, Burseg et al., 2010, Labbe et al., 2006, Tournier et al., 2009, Murphy and Cain, 1980, Frank and Byram, 1988, Lavin and Lawless, 1998, Prescott, 1999, Stevenson et al., 1999, Djordjevic et al., 2004, Le Calvé et al., 2008). “Caramel” aroma also impacts the sweet taste positively (Stevenson et al., 1999). In contrast, some odors not associated with sweetness (angelica oil and damascone) led to a decrease in the perceived sweetness of sucrose in a water solution (Stevenson et al., 1999). Aroma can also modify the perception of sourness. “Caramel” notes decreased the perception of sourness of a solution

containing 1.44 g.L^{-1} citric acid (Stevenson et al., 1999). In addition, a “lemon” aroma can enhance perceived acidity (Valentin et al., 2006, Le Calvé et al., 2008).

Concerning bitterness modulation by aromas, only a few works have been dedicated to this topic (Gaudette and Pickering, 2013). Cocoa and coffee aromas increase bitterness (Labbe et al., 2006, Keast, 2008). However, addition of an aromatic extract from a “fruity” white wine to a red wine slightly reduced the bitterness (Sáenz-Navajas et al., 2012) although the decrease in bitterness by sweet congruent aromas does not work in all contexts (Labbe et al., 2006). These authors observed an insignificant effect of vanilla aroma on the bitterness of cocoa beverages.

Finally, aroma can modulate astringency. A recent work indicated that the presence of aromatic compounds, with fruity, leather and smoked notes, in solutions with phenolic compounds (catechin or epicatechin) increased their astringency (Ferrer-Gallego et al., 2014). However, a decrease in astringency was observed by adding a “fruity” aromatic fraction to reconstituted wines (Sáenz-Navajas et al., 2012).

The study of aroma-taste interactions in real food products needs specific conditions in order to demonstrate whether psychological interactions occur. Among cognitive interactions, the dumping effect, observed by Franck and Van de Klaav (1992) and confirmed by Clark and Lawless (1994), generates an overestimation of some attributes when the list of attributes is incomplete and lacks appropriate response categories. This can be assessed by comparing answers of panelists when they are asked to score a short list of attributes and a longer list containing adapted aromatic notes (Clark and Lawless, 1994, Frank et al., 1993a). This procedure is used to report the possible overestimation of an attribute score (i.e. sweetness) when the appropriate attributes are lacking (i.e. strawberry). Another interesting aroma taste interaction is called congruency. Even if taste and olfaction are two anatomically and physiologically distinct entities, there is a lot of evidences that gustation and retronasal olfaction interact closely with one another (Delwiche, 2004, Lim et al., 2014). Thus, a taste (i.e. sweetness) can be perceived more intense when it is evaluated with a congruent aroma (i.e. caramel note)(Prescott et al., 1996). A way to reveal this psychological origin of aroma-taste interaction is to use a strategy with sensory input blockers (Poinot et al., 2011, Sáenz-Navajas et al., 2012). It can be assessed by comparing the scores for taste attributes obtained with and without the use of a nose clip.

In cider, no works have described aroma-taste interactions. Nevertheless, “Apples, Cooked Apples, Fruity, and Caramel” odors and aromas can be present in ciders (Piggott and Watson, 1992, Le Quéré et al., 2006). Therefore, based on the literature, we hypothesized that these notes could modulate cider taste and astringency. The aim of the present work was to investigate the interactions between aromas and four sensory characteristics: sweetness, sourness, bitterness and astringency in commercial ciders. Three different conditions were compared. The first two consisted of scoring the four sensory attributes with and without wearing a nose clip. The third one was the evaluation of the same list of four attributes without a nose clip but completed by seven other aromatic attributes. Comparing the results for the four attributes in the conditions without a nose clip should reveal the presence of a dumping effect while comparing the conditions with and without a nose clip when evaluating only four attributes should indicate whether there is a congruency effect in cider.

3.1.2 *Materials and methods*

3.1.2.1 Commercial ciders

Sixteen ciders with different sensory profiles were selected based on the professional expertise of four experts working for at least five years in cider production as an oenologist, technical adviser or quality manager. They were asked to provide samples of ciders from their area of production with very different tastes and aromas. A selection of sixteen ciders was made after an informal tasting organized with a small team of the sensory laboratory.

Ciders were first characterized by their pH and titratable acidity expressed in g.L^{-1} eq malic acid. Sugar content (fructose, sucrose, glucose) was measured by an enzymatic methodology (Megazyme Sucrose/Fructose/D-Glucose Assay Kit - K-SUFRG) and expressed according to the equation: Total sugar = sucrose + (0.95 x (glucose + fructose)). Total procyanidins and their average degree of polymerization (aDP) were quantified following the method described by Guyot, Marnet, Laraba, Sanoner, & Drilleau (1998).

Products were tasted at 11°C +/- 1°C in INAO normalized glasses. Bottles of cider were opened at the beginning of the session and were capped between each service.

3.1.2.2 Sensory evaluation by a trained panel

Fifteen panelists took part in this experiment. They were occasional cider consumers (a minimum of 10 times a year). They had previously been involved in a sensory project for the evaluation of odor and aroma in apples (Charles, 2013) and were trained in the flavor evaluation of cider in this context. Then, they were trained for about 60 hours in the taste evaluation of model cider solutions (Symoneaux et al., 2014b). At the beginning of the present experiment, they were familiarized with cider aroma recognition using seven references presented on sniff paper stickers (Table 16).

Table 16 :Reference molecules for training on cider aroma

Attributes	Selected references
Citrus fruit	limonene 10% ethanol
Caramel / Apple purée	ethyl acetoacetate 1% ethanol + ethyl maltol 1% ethanol
Animal	para-cresol 1% ethanol
Hay	hay absolute 10%
Fruity	cis-3-hexenyl acetate 1% ethanol hexyl acetate 1% ethanol
Floral / Honey	phenyl ethyl acetate 10% ethanol
Earthy	geosmin 0.01% ethanol

In order to assess the impact of aroma on taste perception, a nose clip was used but this requires some training to perform the sensory task in a comfortable way for a sparkling product. For this reason, without explaining the aim of the experiment, two sessions were devoted to evaluating the cider taste with a nose clip, performing ranking and scoring tasks on several commercial ciders.

3.1.2.3 Design of the sensory experiment

Three conditions were used during the test: i) the evaluation of sweetness, sourness, bitterness and astringency without a nose clip (Wout.NC condition), ii) the evaluation of the same attributes with a nose clip (W.NC condition) and iii) the evaluation of the seven aroma attributes in addition to the four previous attributes (Arom condition) without a nose clip. All attributes were evaluated on a unlabeled 14-cm linear scale using FIZZ acquisition software (version 2.10; Biosystems, Courtenon, France). The left end of the scale corresponded to the lowest intensity (value 0) and the right end to

the highest intensity (value 10). Products were tasted under red-light illumination. Each assessor rinsed his/her mouth with mineral water and ate unsalted crackers between sample evaluations. They were asked to wait at least 2 minutes between each sample.

In order to avoid a learning or an order effect in the experiment, the first two conditions (W.NC and Wout.NC) were balanced between panelists. Half of the panel began with the W.NC condition followed by the Wout.NC one, while the other half worked in the reverse order. The aroma condition test was carried out by all tasters after the two previous conditions. During this third test, tasters had to evaluate the seven attributes, the three tastes, and astringency presented simultaneously on the same page (Arom condition).

For each condition, the sixteen products were presented in duplicate, in a sequential monadic way, and their order was based on a Williams Latin-square arrangement. Twelve sessions of one hour (eight products per session) were spread over four weeks.

3.1.2.4 Data analysis

All analyses were performed with the R software package (version 3.1.2, R Core Team). First, a two-way ANOVA (Product as fixed factor and Judge as random factor) was carried out for the aromatic attributes, in order to confirm that the sixteen ciders were significantly different in terms of aroma, and a Principal Component Analysis was carried out using the FactoMineR package (Husson et al., 2013) on the average scores of the aromatic attributes.

Then, two series of three-way ANOVAs (Product and Condition as fixed effects, Judge as random effect) were performed on the three tastes and astringency: first, to compare Wout.NC and W.NC conditions and secondly, to compare the results for the condition with aroma and the Wout.NC conditions. All ANOVAs were performed using Statgraphics Centurion XVI (Version 16.1.18, StatPoint Technologies, Inc).

The contribution of each product to the interaction Product x Condition was calculated using the function *interact* in the SensoMineR package (Le and Husson, 2008).

3.1.3 Results

3.1.3.1 Chemical composition and aromatic characteristics of the sixteen ciders

The sixteen products were selected to provide a large overview of cider characteristics. The chemical analysis confirmed this diversity (Table 17). Eight products (C21, C23, C31, C10, C17, C02, C11 and C07) contained more than 30 g.L⁻¹ of sugar. C10 presented the highest concentration of sugar with 52.1 g.L⁻¹. Logically, due to the fermentation process, the ethanol content was inversely linked to the sugar content. C05 was the cider with the highest acid content (4.16 g.L⁻¹) and lowest pH (3.44) and differed from the others concerning these characteristics. The concentration of procyanidins ranged from 0.3 g.L⁻¹ to 1.66 g.L⁻¹. The highest concentration was found in ciders C02, C07, C31, C21, and C03 (over 1 g.L⁻¹) and the lowest in C11, C10 and C17. Finally, aDP ranged from 1.8 to a maximum of 4.6. From the works of Symoneaux et al. (2015b, 2014b, 2014a), differences in mouth sensory characteristics (sweetness, sourness, bitterness and astringency) could be expected from these chemical compositions.

Table 17 : Chemical composition of ciders

Cider	Sugar g/L	Ethanol % vol.	pH	Titrateable acidity g/L eq malic acid	aDP	Procyanidins g/L
C01	24.5	4.4	3.88	1.95	2.8	0.59
C02	44.2	4.5	3.72	2.49	2.4	1.66
C03	21.5	5.1	3.85	2.05	2.6	1.06
C05	25.0	5.7	3.44	4.16	3.6	0.46
C07	33.1	4.7	3.75	2.25	2.5	1.34
C10	52.1	3.4	3.54	1.83	2.2	0.31
C11	30.1	4.3	3.6	2.52	2.1	0.30
C15	16.9	6.3	3.96	2.62	1.9	0.60
C17	37.0	4.3	3.8	2.52	1.8	0.37
C18	26.7	5.8	3.8	2.42	2.3	0.52
C19	26.7	4.8	3.53	3.09	4.6	0.48
C21	36.3	4.4	4.1	1.91	2.8	1.15
C22	27.4	5.4	3.48	3.77	2.7	0.32
C23	38.1	3.6	3.83	1.79	3.3	0.71
C27	12.7	4.6	3.8	1.91	4.1	0.39
C31	43.3	4.3	3.65	2.96	2.8	1.29

Concerning aroma perception, the ANOVAs performed on the aroma evaluations of the sixteen products in the Arom condition (when tasters evaluated the aroma without a nose clip) were

significant for all attributes ($p < 0.001$). Figure 21 presents the results of the Principal Component Analysis on the aroma average table.

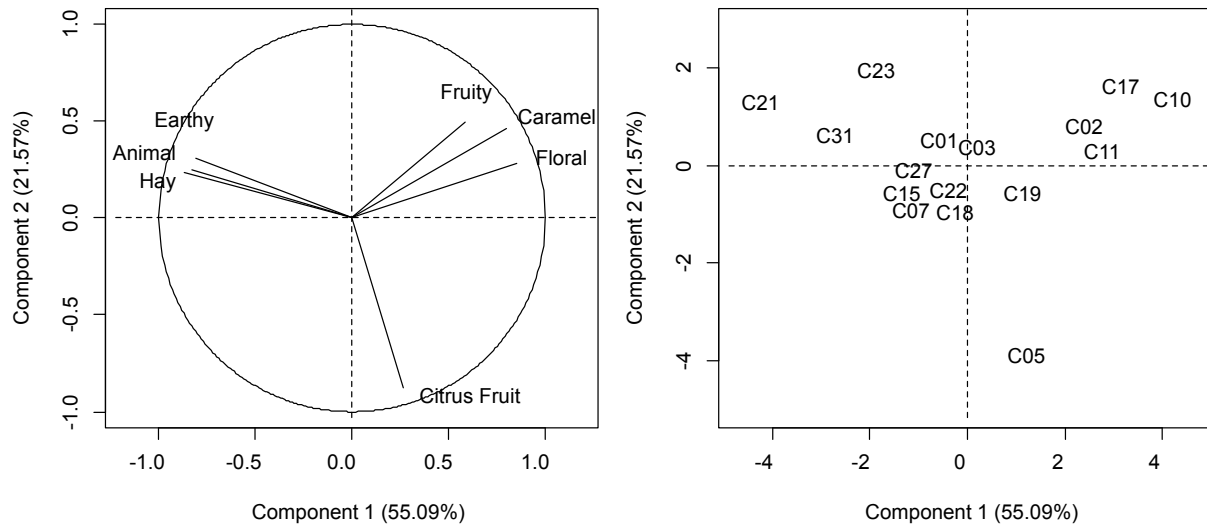


Figure 21 : Principal Component Analysis on the average scores related to aromatic notes

The first component opposed products with earthy, animal and hay notes to the products with caramel, floral and fruity notes. It thus opposed C21, C31 and C23 to C10, C17, C11 and C02. On the second component on the PCA, C05 was characterized by citrus fruit notes.

In conclusion, the product selection made by the cider professionals was pertinent since it provided ciders with very different chemical and aromatic characteristics.

3.1.3.2 Impact of the condition on tastes and astringency

Table 18 presents the ANOVA p-values for each studied factor and interaction of each sensory attribute. Despite the long training of the panel, a significant “Judge effect” was observed for all attributes whatever the condition tested. “Judge x Product” interactions were also significant but a performance analysis (data not shown) indicated that this interaction was due more to a “scaling effect” generated by the high discrimination of the panel than to “a pure disagreement” (Bavay et al., 2014). The “product effect” was highly significant for all attributes, showing that the selection of the 16 ciders with different chemical parameters provided ciders with very different organoleptic characteristics, as anticipated.

Table 18 : Results of the variance analyses in the Wout.NC and W.NC conditions and in the Arom and Wout.NC conditions

	Attributes	Product		Judge		Product:Judge		Condition:Judge		Condition		Condition:Product	
		F	p-value	F	p-value	F	p-value	F	p-value	F	p-value	F	p-value
W.NC vs. W1	Sweetness	27.83	<0.0001	11.54	<0.0001	1.88	<0.0001	9.82	<0.0001	0.30	0.5908	2.26	0.0041
	Sourness	12.40	<0.0001	14.62	<0.0001	1.58	<0.0001	3.00	0.0003	1.66	0.2196	0.96	0.4915
	Bitterness	14.71	<0.0001	11.34	<0.0001	2.38	<0.0001	2.88	0.0005	0.06	0.8150	1.40	0.1401
	Astringency	29.57	<0.0001	12.65	<0.0001	1.67	<0.0001	3.69	<0.0001	6.68	0.0226	0.97	0.4814
Wout.NC vs.	Sweetness	24.96	<0.0001	14.98	<0.0001	1.70	<0.0001	6.10	<0.0001	2.04	0.1765	1.19	0.2742
	Sourness	11.10	<0.0001	11.07	<0.0001	2.17	<0.0001	3.04	0.0002	1.69	0.2164	0.94	0.5223
	Bitterness	14.23	<0.0001	10.78	<0.0001	2.24	<0.0001	2.45	0.0030	2.31	0.1525	0.88	0.5853
	Astringency	29.82	<0.0001	6.23	0.0003	1.77	<0.0001	5.04	<0.0001	1.57	0.2328	0.75	0.7290

When the two conditions without a nose clip (Wout.NC vs. Arom) were compared, no significant difference was observed for the “condition effect” in the Anova and the interaction between condition and products for any attributes (Table 18). This means that the panel notation was not significantly different both for the four attributes alone and when this short list was completed by seven aromatic notes.

Finally, the results indicated some modifications of perception when tasters worked on the short list of sensorial attributes with and without a nose clip. The “condition effect” was significant in the case of astringency (Table 18). When tasters wore the nose clip, the astringency was perceived significantly lower (M=4.19; M=4.76, respectively). In addition, interactions between Condition and Product were studied. Sweetness was the only attribute with a significant interaction when the two conditions W.NC and Wout.NC were compared. This means that the perceived sweetness of ciders was modified for some products depending on the condition, so depending on the possibility to perceive the aroma or not.

This interaction can be visualized on Figure 22 that presents, on the left axis, mean sweetness values of each product in the two conditions (W.NC and Wout.NC) with a standard deviation (SD) error. On the right axis, the percentage of contribution of each product to the Product x Condition interaction is represented. Five products, in decreasing order of contribution C11, C21, C23, CO2 and C17, had a contribution higher than 5% and all together concentrated about 75% of the contribution to the interaction. These products were responsible for the interaction with sweetness depending on the condition. This can be observed by looking at the differences between product means: significant differences in sweetness between both conditions were observed only for these five ciders when they were tested with or without a nose clip. C11, C17 and CO2 were perceived sweeter without a

nose clip compared to the same product evaluated with a nose clip. As presented previously, these three ciders had fruity and caramel aromatic notes. Inversely, C21 and C23, which had hay, earthy and animal aromatic notes, were perceived less sweet when tested without a nose clip. The perceived sweetness of these five ciders was influenced by their aroma.

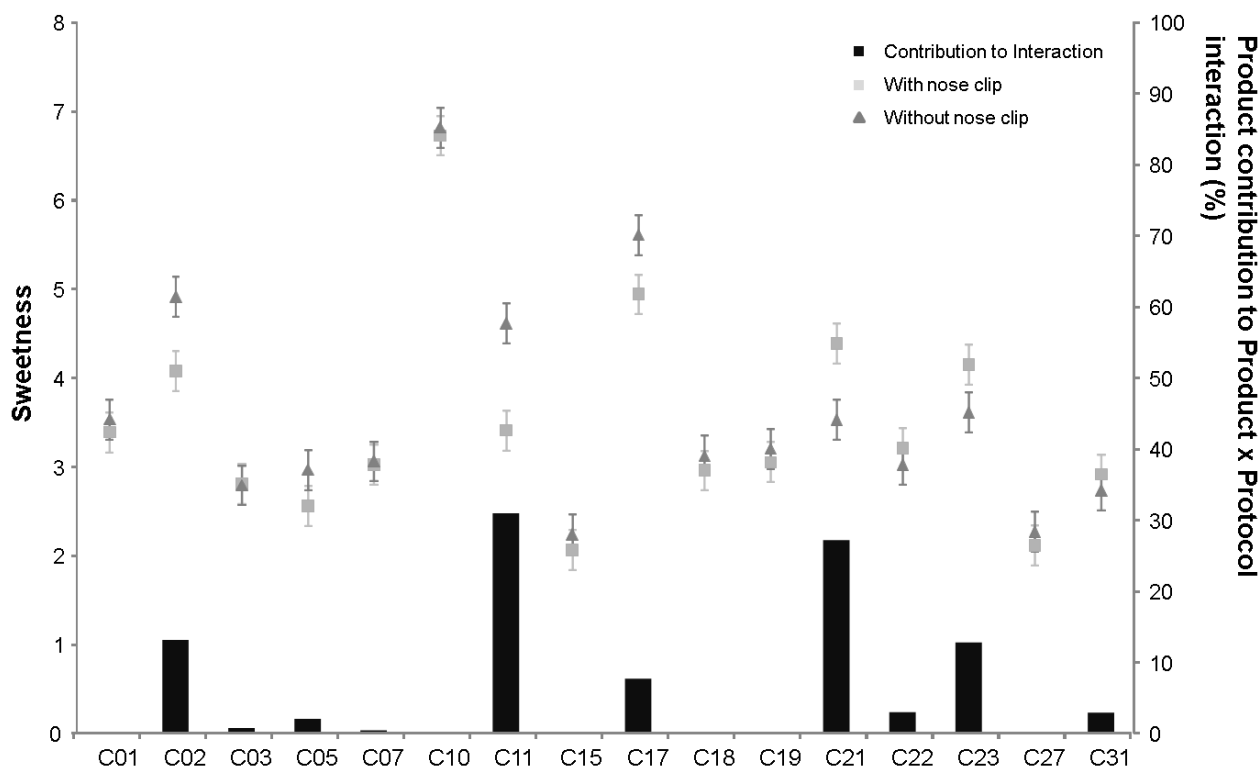


Figure 22 : On the left axis, mean values of sweetness for each product depending on the condition tested (in dark gray, Without Nose Clip and in light gray, With Nose Clip). On the right axis, contribution to the Product x Condition interaction in black.

The product with a fruity note (C10) did not lead to an over-notation of sweetness in the Wout.NC condition. This product was the sweetest with 52.1 g.L^{-1} of sugar. In this case, the fruity note did not reinforce this sweetness, as it was already highly perceived by the panel. Besides, some products such as C07 and C15, which presented animal, hay and earthy notes but with a lower concentration of sugar (33.1 and 16.9 g.L^{-1} , respectively), were both evaluated with the same sweetness with or without a nose clip. Finally, C31, which had the same aromatic characteristics as C21 and C23, was evaluated with a similar sweet perception in both conditions. This product had a sugar content close

to the two other ciders but a higher acid content, leading to a lower perception of the sweetness of this cider.

3.1.4 Discussion

In the present work, a sensory experiment was designed in order to evaluate whether the aroma could modify cider mouthfeel characteristics by psychological interactions. The selection of ciders with different aromatic profiles and chemical compositions was made for this purpose. The scoring of a short list of attributes without aromatic notes and the same list with seven aromas was compared to evaluate whether the dumping effect could occur in cider. Then, the results obtained for the short list of attributes with or without a nose clip were compared in order to validate the possible presence of a congruency phenomenon in real ciders.

The “dumping effect” can be ruled out in the present experiment. Working with only four mouthfeel attributes in the Wout.NC condition could have been the source of such an effect. However, the comparison between both conditions without a nose clip, one with this short list of four mouthfeel attributes (Wout.NC) and the other with the same attributes completed by aroma ones (Arom), indicated there was no condition effect and no product x condition interaction. This meant that the perception of sweetness, bitterness, sourness and astringency was not significantly modified, either overall or just for some products, by the lack of aromatic attributes. This confirmed that the comparison of both conditions with the short list (Wout.NC and Arom) did not suffer from this dumping effect.

Then, the use of a nose clip was chosen as a strategy for evaluating the impact of the aromatic fraction on taste. The use of the nose clip modified only the perception of astringency and sweetness. The aromas of cider modified the sweetness of some products. Neither sourness nor bitterness was influenced by the aromatic profile of the sixteen ciders. The use of a nose clip enabled the physicochemical interaction between volatile compounds and tastants to be excluded as an explanation of this aroma-taste interaction. Thus, the psychological source of the interaction between aroma and taste could be observed (Poinot et al., 2013). Since the dumping effect has been excluded as an explanation of a psychological interaction in the present work, the modification of sweetness intensity for some products may be associated with a congruent effect between taste and aroma. The enhancement of sweetness by the “fruity” and “caramel” aromas of ciders is in accordance with the literature (Boakes and Hemberger, 2012, Burseg et al., 2010, Labbe et al., 2006,

Tournier et al., 2009, Murphy and Cain, 1980, Frank and Byram, 1988, Lavin and Lawless, 1998, Prescott, 1999, Stevenson et al., 1999, Djordjevic et al., 2004, Le Calvé et al., 2008). As congruency is generally studied in model solutions with simple molecules, its extension in a complex product would be a powerful association between aromatic profile and taste characteristics within the product space. Characterizing a large set of commercial ciders, Le Quéré et al. (2006) distinguished a strong polarization between ciders presenting “fruity”, “apple/fruit”, “exotic fruits”, “vanilla”, “flowery”, “cooked apple” and “caramel” notes in opposition to other ciders with “animal”, “vat dregs”, “underwood” and “woody” aromas. A taste opposition was associated with this polarization. Sweetness was located with the first pole containing “fruity notes” and bitterness (and, by opposition, products with a low level of sweetness) was linked to the second pole. Thus, consumers of French ciders are exposed to this segmentation when they drink this beverage. Odor-taste interactions may be the result of associations experienced through food exposure without any explicit attention (Labbe et al., 2006). Therefore, the modification of sweetness for some products in the present study could be the consequence of panelists’ previous exposure to French ciders and their memorization of associations between specific aromas and tastes in cider.

Simultaneously, a decrease in perceived sweetness was observed for some ciders presenting hay, earthy and animal aroma notes when products were evaluated without a nose clip. Although the perceptual factor responsible for an enhancement of sweetness by fruity aromas is well documented, there are no works in the literature mentioning a decrease in sweetness for hay, earthy and animal notes. Only Prescott (Prescott, 1999) and Stevenson et al. (1999) reported a decrease in sweetness for low sweetness odors (oolong tea, peanut butter, angelica oil and damascone). In the case of cider, the familiarity of tasters with aromatic profiles (“animal”, “vat dregs”, “underwood”) associated with low sweet ciders, as mentioned by Le Quéré et al. (2006), could have generated the present perceived decrease in sweetness.

The aroma-taste interaction observed for sweetness appears to be sugar concentration-dependent. Only products with a medium level (around 35-40 g.L⁻¹) of sugar content were impacted. In fact, it is more the level of sweetness perception that is involved than the precise amount of sugar. Only products with a sweetness intensity ranging from 4 to 5 had their sweet perception modified by aromas. C31, which contained 43.3 g.L⁻¹ of sugar, had a lower perceived sweetness compared to other products with a similar amount of sugar because its acid content decreased the sweet perception by a mixture suppression effect. The sweetness intensity of this product was under 3 and it was not modified depending on whether a nose clip was used. Thus, the congruency phenomenon

occurs in cider only for a medium sugar intensity. In their study of taste-taste interactions, Keast and Breslin (2003) suggested that the position of the individual taste stimuli on the concentration-intensity psychophysical curve (expansive, linear, or compressive phase of the curve) predicts large interactions when reporting the enhancement or suppression of taste mixtures. The aroma-sweetness interaction appears to follow the same behavior. It occurs only when the sugar concentration falls within a specific range, probably corresponding to the linear phase of the concentration-intensity psychophysical curve but also possibly depending on the taste-taste interaction. This hypothesis could explain why contradictory results are observed in the literature. Aroma could modify taste but it depends on the initial intensity of the sensation studied.

Astringency was lower when tasters wore the nose clip. Ferrer-Gallego et al. (2014) observed that the addition of volatile compounds increased the intensity of the astringent perception of flavanol solution without proposing hypothesis to explain this result. In the present experiment on cider, this global decrease of astringency could be due to an artefact produced by the way tasters evaluated ciders with and without nose clip. Astringency is an oral tactile sensation produced by the interaction of polyphenols (mainly polymeric flavanols) with salivary proteins (Gawel, 1998). Procyanidins precipitate proteins of saliva by chemical binding (hydrophobic interaction and hydrogen bonding) and lead to a loss of lubricating effect of the mouth. Therefore, an astringent sensation appears. Astringency is known to be additive and to increase in the case of several successive exposures (Green, 1993, Guinard et al., 1986, Ross et al., 2007). In this study with cider, a sparkling product, the use of nose clip is not easy for tasters. Despite some training to use it, it was observed that tasters kept samples a little bit less time in mouth than in the conditions without nose clip for which it was easier to breathe and taste normally. The bubbles and the foam produced in the mouth without the possibility to evacuate the CO₂ by the nose make the subjects to spit the product quicker. For this reason in the Wout.NC condition, the time the cider stayed in mouth being superior, the perceived astringency was globally higher. Another explanation could be that when tasters did not wear nose clip, they kept products a longer time in mouth or they stirred it more to access to aromatic composition. By this action, they increased mechanically the astringent perception. These two hypotheses for the increase of astringency should be verified by other experiments.

Finally, the product C05, which was the sourest and had the highest acid content, was evaluated with a higher aromatic note of citrus fruits. The experimental design was not developed to identify whether this observation was the result of a taste-aroma interaction. Nevertheless, several authors have reported that acid content can modify aroma perception. Concerning sourness and lemon or

citrus fruit interactions, some works identified that an increase in acid content led to a higher evaluation of citrus fruit aroma in the product. In wine, Zamora & Guirao (2004) observed a significant negative correlation between lemon aroma and pH, and sour and lemon were positively linked. In tomatoes, the lemon aroma was positively correlated to the titratable acidity (Causse et al., 2002). The same interaction was analyzed in a citrus-flavored model beverage system. The citrus flavor intensity was significantly enhanced by citric and lactic acid addition. From these works, we could hypothesize that the aromatic note of citrus fruit observed in the product C05 could be due to its high acidity content. Nevertheless, only an aromatic volatile profile would have confirmed the presence or not of aromatic compounds responsible for such an aroma note.

3.1.5 Conclusion

Aroma- taste interactions occur in cider. The perceived sweetness of some ciders was modified by aroma. Fruity and caramel aromatic notes enhanced perceived sweetness while hay, animal and earthy notes decreased it. However, these interactions between aromatic notes and sweetness were sugar concentration-dependent. They occurred only for a sugar content of around 35-40 g.L⁻¹. Sourness and bitterness perceptions were not modified by aroma. In cider, sugar, acid, ethanol and polyphenol composition determine cider sweetness (Symoneaux et al., 2015) but in some cases, due to cultivar selection, processes or blending, the aromatic profile could also modify the sweetness. Cider producers need to be aware of this particular point when they try to predict cider organoleptic properties from chemical composition.

Synthèse de cette étude

Les conditions de dégustation de cette étude ont été choisies pour révéler la possible existence d'interactions cognitives liées à la présence des arômes lors de l'évaluation du goût sucré, de l'acidité, de l'amertume et de l'astringence de cidres.

Sans pince-nez, les résultats des quatre attributs gustatifs, présentés seuls ou accompagnés de quelques attributs aromatiques, montre que le panel ne souffre pas d'un effet de « halo-dumping » qui aurait conduit à une surestimation des attributs évalués en l'absence des attributs aromatiques.

En revanche, l'utilisation des pince-nez a permis de mettre en évidence un phénomène de congruence dans l'espace produit des cidres. En effet, le goût sucré de certains cidres est modifié en présence des arômes. Ainsi, une augmentation de la caractéristique sucrée en lien avec la présence de notes aromatiques fruitée et caramel est observée et pouvait être attendue au regard de la bibliographie. Par contre, la diminution, par les notes de terreux et foin, du sucré perçu n'a jamais été observé dans la littérature. Ainsi deux cidres présentant des caractéristiques physico-chimiques similaires peuvent présenter une perception du sucré sensiblement différente en fonction du profil aromatique de ceux – ci. Il est intéressant de noter que ces effets de congruence ne sont observés que dans des cidres où la perception sucrée est moyenne correspondant à un niveau de sucres autour de 35-40 g/L.

Au-delà des cidres, ce résultat laisse penser que les effets de congruence sont concentrations dépendant ce qui expliquerait pourquoi des conclusions contradictoires sont observées dans la littérature. L'interaction de l'arôme sur la saveur nécessite donc une conjonction de plusieurs éléments. Elle n'interviendrait que quand la saveur est dans une plage bien particulière de concentration, correspondant probablement à une partie de la phase linéaire de la courbe psychophysique mettant en relation l'intensité perçue et la concentration. Elle ne prendrait place que pour des arômes qui sont régulièrement associés à des caractéristiques sensorielles données dans l'espace produit étudié et qui, par expositions successives, généreraient cette interaction cognitive. Mais des travaux complémentaires seraient nécessaires pour valider cette hypothèse.

Partie IV. Discussion générale et Perspectives



Artwork designed by [shirtsforall](#)

L'objectif de cette thèse est de comprendre le rôle de plusieurs composés chimiques : les procyanidines, le fructose, l'acide malique, l'alcool, le dioxyde de carbone et les arômes sur la perception de quatre sensations en bouche du cidre : le goût sucré, l'acidité, l'amertume et l'astringence. Les interactions qui ont lieu lors de la dégustation de solutions sont très dépendantes des molécules présentes et de leur concentration. Aussi, la compréhension des interactions entre les différents composés chimiques du cidre mérite une approche spécifique intégrant les spécificités de cette matrice. Pour répondre à cette problématique, plusieurs plans d'expériences ont donc été construits pour 1°) étudier le rôle des procyanidines en interaction avec la matrice dans des solutions modèles sans CO₂, 2°) étudier l'ensemble des interactions entre les procyanidines, le fructose, l'acide et l'alcool, 3°) étudier l'impact de la présence du dioxyde de carbone sur le goût sucré, l'acidité, l'amertume et l'astringence et, finalement, 4°) observer si des interactions cognitives liées à la présence de notes aromatiques spécifiques prennent place lors de la dégustation de cidres.

Les résultats de nos travaux ont confirmé des spécificités dans la construction des caractéristiques sensorielles des cidres en lien avec les concentrations des différents composés chimiques présents, avec la particularité des procyanidines issus des pommes et avec les notes aromatiques rencontrées dans les cidres.

1.1. L'importance des procyanidines dans la construction gustative des cidres

L'analyse des résultats a confirmé un rôle déterminant des procyanidines qui modulent fortement les quatre attributs sensoriels étudiés. Nous avons ainsi montré que la concentration en procyanidines joue un rôle majeur sur ces quatre sensations et plus particulièrement encore sur l'amertume et l'astringence. Il faut retenir que la composition en procyanidines intervient également dans la perception du goût sucré et de l'acidité.

1.1.1 L'impact des procyanidines sur l'amertume

De plus, nous avons confirmé le rôle du degré de polymérisation sur la perception de l'amertume en retrouvant notamment l'observation faite par Lea et Arnold en 1978 d'une plus forte amertume des

procyanidines tétramères. Dans notre cas, nous avons observé cette surexpression de l'amertume pour les fractions riches en tétramères et pentamères. Malheureusement, pour des raisons pratiques, nous n'avons pas pu comparer ces deux fractions puisqu'elles ont été analysées dans deux matrices différentes, dans deux plans d'expériences différents. Il est, par ailleurs, important de mentionner que cet effet du DP sur l'amertume n'est observé que pour des concentrations fortes en procyanidines, au-delà de 500 mg/L.

Il est difficile avec les connaissances actuelles des mécanismes physiologiques régissant l'apparition de l'amertume de comprendre ce qui explique cette particularité des procyanidines tétramères et pentamères de pommes au regard des autres procyanidines. Comme nous l'avons vu dans la bibliographie, l'affinité des récepteurs de la famille T2R avec les molécules de grandes tailles comme les oligomères de procyanidines n'est pas étudiée pour le moment. Le fait que les procyanidines de pommes présentent cette particularité pour les DP4 & 5 par rapport à des procyanidines du vin pourrait être un sujet intéressant à approfondir pour comprendre les interactions entre les procyanidines de différentes tailles, conformations et compositions et les récepteurs spécifiques à l'amertume. Est-ce que la conformation particulière en forme d'haltère observée pour les tétramères de procyanidines de pommes (Zanchi et al., 2009) conduit à une meilleure affinité avec les récepteurs T2R et produit cette surexpression de l'amertume ? Est-ce que la composition majoritaire en (-)-épicatchine est à l'origine des spécificités des procyanidines du cidre quant à l'amertume par rapport aux procyanidines issus des raisins et du vin ? Des travaux supplémentaires seront nécessaires pour le savoir.

1.1.2 L'impact des procyanidines sur l'astringence

L'astringence, quant à elle, est également fortement déterminée par le degré de polymérisation des procyanidines en solution ce qui était décrit dans la littérature. Par contre, nous montrons, ici, une interaction entre le DP et la concentration. En effet, l'augmentation de l'astringence due à une augmentation de la concentration en procyanidines est beaucoup plus forte pour les procyanidines de grandes tailles par rapport à ceux de petites tailles qui voient leur astringence augmenter de manière beaucoup moins marquée en fonction de la concentration. Dans le vin, cette interaction n'est pas mentionnée en tant que telle mais des travaux récents montrent une interaction de ce type, *in vitro* (Sun et al., 2013). Ces auteurs travaillent avec une fraction d'oligomères de DP_{moyen} 7,2 et une fraction de polymère de DP_{moyen} 25,2.

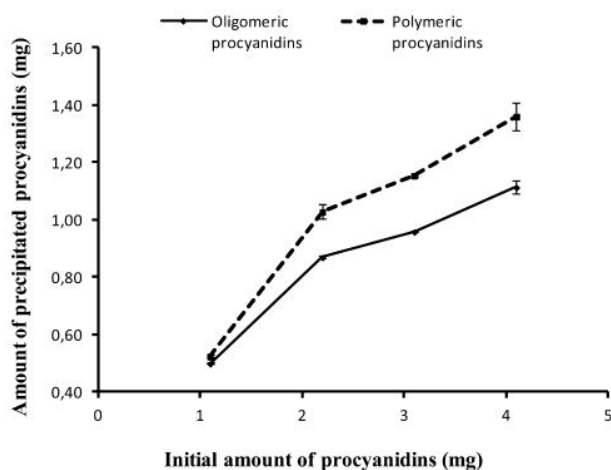


Figure 23 : Réactivité des procyanidines oligomères et polymères vis-à-vis des protéines salivaires évaluées par la méthode Folin-Ciocalteu (Sun et al., 2013).

La Figure 23, issue de leurs travaux, montre que la quantité de procyanidines précipitée est plus forte pour la fraction composée de polymères de procyanidine mais que cette différence s'accroît à mesure que la concentration en procyanidines initiales augmente. Ils concluent à une plus grande réactivité des fractions de haut DP. La capacité de précipitation des protéines salivaires est plus grande pour les fractions de procyanidines polymères que celles des fractions oligomères. En revanche, quand ces deux fractions sont mises en solution aqueuse à 250 mg/L, 500 mg/L et 1 000mg/L, ils n'observent pas d'interaction entre le DP_{moyen} et la concentration sur l'astringence (Figure 24). En effet, les polymères sont plus astringents que les oligomères et l'astringence est plus intense à mesure que la concentration en procyanidines augmente. Mais, l'écart d'astringence entre les deux fractions étudiées reste sensiblement le même quand la concentration varie.

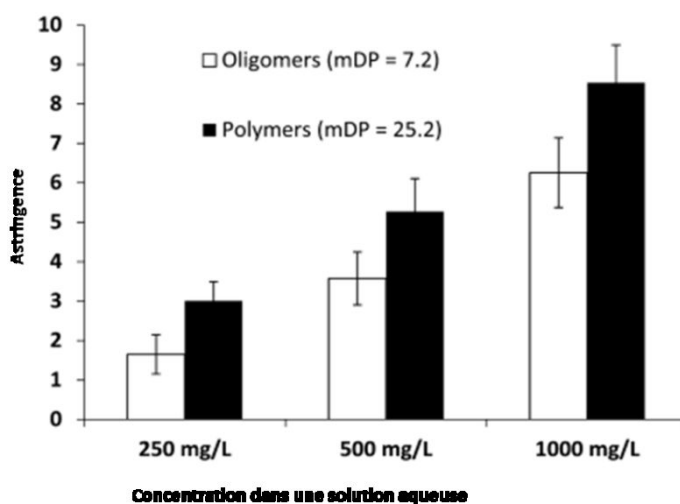


Figure 24 : Astringence de fraction de procyanidines oligomères et polymères en solution aqueuse (Sun et al., 2013)

Dans ces travaux, la comparaison est faite entre deux fractions à des DP_{moyen} beaucoup plus élevés que ceux observés dans le cidre, dans une solution aqueuse, et avec un écart très important entre les fractions. C'est ce qui peut expliquer la non-observation d'interaction entre DP et concentration sur l'astringence perçue.

Des travaux encore plus récents sur des procyanidines de plus petites tailles, de trimères à octamères (Harbertson et al., 2014) montrent également, *in vitro* et sans dégustation à suivre, une interaction entre la concentration en procyanidines et le degré de polymérisation. Ainsi, la quantité de protéines précipitées par les procyanidines augmente plus vite en fonction de la concentration pour les tanins de grandes tailles que ceux de petites tailles. L'interaction entre le degré de polymérisation et la concentration en procyanidines que nous observons pour l'astringence des cidres doit donc être le résultat de cette plus forte réactivité des procyanidines de grandes tailles face aux protéines salivaires

1.1.3 Les spécificités propres aux procyanidines étudiés

Plusieurs points sont encore à mentionner concernant les polyphénols que nous avons utilisés dans nos plans d'expériences : l'utilisation de fractions purifiées, puis d'un pool de polyphénols obtenus par collage sur un marc de pommes et le focus sur les oligomères et polymères de procyanidines.

Pour étudier l'impact du degré de polymérisation sur les quatre attributs sensoriels, nous avons travaillé avec des fractions de procyanidines purifiées permettant d'étudier l'impact de chaque DP pris séparément. Cette stratégie était pertinente pour valider l'impact du DP sur la perception en bouche mais elle n'a pas permis d'étudier l'additivité entre différentes molécules de degré de polymérisation différent. Ainsi, par manque de matière première, nous n'avons pas pu reconstituer des mélanges avec des ajouts dosés de plusieurs procyanidines de tailles différentes. Cette approche serait d'autant plus intéressante que de récents travaux identifient des synergies entre différents types de polyphénols sur leur capacité à précipiter des protéines et sur l'astringence perçue (Harbertson et al., 2014, Ferrer-Gallego et al., 2014).

Par ailleurs, en complément des procyanidines purifiées, nous avons utilisé des extraits de polyphénols dont l'un était obtenu après collage sur un marc de pommes. Dans ce cas, mais plus largement lors de l'obtention des fractions polyphénoliques du projet, les techniques préparatives pouvaient conduire à une oxydation assez marquée des polyphénols initialement présents dans les extraits. Les outils de quantification des procyanidines qui ont été mis en œuvre lors de la thèse

permettaient d'accéder aux procyanidines natifs mais pas aux procyanidines oxydés. La non-intégration de ces procyanidines oxydés dans nos expériences ne remet pas en cause, d'après nous, la pertinence de celles-ci, mais il serait intéressant dans le futur d'étudier le rôle de ces procyanidines oxydés sur la perception sensorielle. En effet, la littérature ne mentionne que peu de choses sur l'impact des procyanidines oxydés sur les caractéristiques organoleptiques. Or, le cidre est un produit qui subit une forte oxydation au cours de son process. Aussi, serait-il pertinent d'approfondir ce sujet.

Enfin, nous avons fait le choix au début de ce projet, de nous concentrer sur les oligomères et polymères de procyanidines, sans intégrer les monomères de flavanols, ni les autres familles de polyphénols. Nous avons fait l'hypothèse, au regard de leurs concentrations moins importantes dans les cidres et de la littérature relative à leurs impacts sensoriels, que leurs contributions aux quatre sensations étudiées seraient moins marquées que celles des tanins. Il ne reste pas moins que des travaux complémentaires pourraient être menés pour mesurer l'impact de ces autres composés phénoliques présent dans les cidres sur les caractéristiques organoleptiques.

1.2. Vers la construction de modèles prédictifs des caractéristiques sensorielles en fonction des composés chimiques du cidre

Nos travaux confirment des spécificités de la matrice cidre quant aux comportements des procyanidines mais également aux interactions entre l'ensemble des composés chimiques. Ces spécificités proviennent notamment des plages de concentrations observées dans le cidre qui sont différentes de celles du vin et de celles étudiées généralement en solution aqueuse ou hydroalcoolique dans la littérature. Des effets non significatifs dans le vin le sont dans le cidre, et l'inverse est vrai également. Ces particularités, propres à chaque matrice, confirment la nécessité d'étudier celle-ci spécifiquement en intégrant les principales molécules et les concentrations rencontrées dans l'univers produit en question.

Notre stratégie de recherche nous a permis d'identifier le rôle des différents composés sur et le goût sucré, l'acidité perçue, l'amertume et l'astringence. Mais, les différents choix que nous avons faits rendent difficile l'obtention directe de modèles prédictifs exploitables à partir de vrais cidres commerciaux. En effet, les deux premiers plans d'expériences réalisés avec les procyanidines purifiés à DP contrôlés montrent le rôle du degré de polymérisation sur les quatre attributs sensoriels étudiés. Mais ils ne permettent pas une prise en compte du DP pour la construction de modèles

prédictifs. Le plan d'expériences avec deux fractions de DP_{moyen} différent serait certes plus satisfaisant mais il ne balaie pas la gamme des DP_{moyen} observés dans les cidres commerciaux. Par ailleurs, nous avons étudié l'impact de la présence de CO_2 . Cela a permis de valider que les résultats observés dans les solutions modèles ne seraient pas remis en cause en solution gazeuse, mais cela ne permet pas d'intégrer directement une mesure du gaz dans les modèles prédictifs. Enfin, si nous avons observé une modification du goût sucré de certains cidres par la présence de certaines notes aromatiques, nous n'avons pas mesuré les molécules volatiles responsables de ces notes aromatiques pour les intégrer dans les modèles.

Malgré ces réserves, nous avons jugé possible de nous servir de ces résultats pour poser les bases de la construction de modèles prédictifs des quatre attributs sensoriels en fonction de la quantité de sucres totaux, de l'acidité totale, de la concentration en procyanidines et du degré moyen de polymérisation. Pour des questions de simplification, nous avons fait le choix de ne pas intégrer les variables en lien avec le CO_2 et les arômes dans ce premier essai de modélisation.

Plusieurs jeux de données étaient disponibles pour construire puis valider des modèles prédictifs. Les deux bases de données mentionnées au début de ce manuscrit, l'une de 47 cidres issus du projet Casdar Cidre (dont deux cidres devaient être enlevés pour cause de données manquantes) et l'autre de 90 cidres provenant des travaux de Le Quéré et al (2006). Nous avons choisi de ne pas concaténer ces deux bases de données car les panels entraînés n'était pas les mêmes. Nous avons également la possibilité d'utiliser les 16 cidres de l'expérimentation sur l'impact des arômes (BDD Arôme) sur la perception mais l'utilisation de plusieurs protocoles (avec ou sans pince-nez) pouvait être une source de variabilité gênante non souhaitée.

Finalement, nous avons choisi de construire les quatre modèles prédictifs à partir de la base de données de 45 cidres (47 initialement) du projet CASDAR. Cette base de données contenait les concentrations en sucres totaux (g/L), l'acidité totale (g/L eq H_2SO_4), le pH, la quantité d'alcool (% Vol.), la concentration en procyanidines (mg/L) et le DP_{moyen} de cidres sélectionnés pour être représentatif d'une large gamme de cidres commerciaux. Nous avons sélectionné aléatoirement 28 cidres parmi les 45 pour le set de construction des modèles et les 17 restants étaient utilisés pour la validation des modèles. Les trois autres jeux de données (issus de Le Quéré et al. (2006) et les deux base de données (avec et sans pince nez) de 16 cidres du protocole sur l'impact des arômes) ont également été utilisées pour la validation. Nous avons réalisé, avec le logiciel Statgraphics XVI, une régression multiple pour chaque attribut sensoriel en intégrant délibérément à chaque fois uniquement les facteurs directs et quadratiques ainsi que les interactions significatives dans les plans

d'expériences précédents. Pour la composition en acide, nous avons choisi d'intégrer soit le pH, soit l'acidité totale et de conserver le facteur qui donnait les meilleurs résultats.

Table 19 : Coefficients des regressions multiples pour chaque attribut sensoriel

Y	Equation de regression multiple	P-Value	R ² ajusté (n=28)
Sucre	$Y = 8,5839 + 0,7395 \text{ DP} + 0,1424 \text{ Sucres} - 6,6018 \text{ pH} - 0,00213 \text{ Procyanidines} - 0,00053 \text{ Sucres}^2 - 0,3933 \text{ Alcool} + 1,1939 \text{ pH}^2 + 0,0406 \text{ Alcool}^2$	<0,0001	91,395
Acide	$Y = 5,0243 + 0,5523 \text{ AT} + 0,0523 \text{ Sucres} - 0,0114 \text{ Procyanidines} - 0,0583 \text{ DP} \times \text{Sucres} + 0,0051 \text{ DP} \times \text{Procyanidines} + 0,0068 \text{ AT} \times \text{Sucres} + 0,00037 \text{ AT} \times \text{Procyanidines} + 0,00000129 \text{ Procyanidines}^2$	<0,0001	57,790
Amer	$Y = -28,8041 + 0,0948 \text{ Alcool} - 0,0119 \text{ Procyanidines} + 0,5550 \text{ DP} - 0,0425 \text{ Sucres} + 16,3753 \text{ pH} - 2,0871 \text{ pH}^2 + 0,00383 \text{ pH} \times \text{Procyanidines}$	<0,0001	70,251
Astringent	$Y = 11,1916 + 0,00185 \text{ Procyanidines} - 0,3460 \text{ DP} - 0,0607 \text{ Sucres} - 1,5297 \text{ pH} + 0,000768 \text{ DP} \times \text{Procyanidines} + 7,489\text{E-}7 \text{ Procyanidines}^2$	<0,0001	61,289

La Table 19 présente les équations des régressions multiples, la significativité des modèles et le R² ajusté pour les quatre attributs en fonction des facteurs qui ont été entrés dans les modèles à partir des résultats précédents. Les P-Values des quatre modèles sont significatives. Cependant, on doit noter que seuls, le goût sucré et l'amertume présentent des R² ajustés supérieurs à 70.

La validation de ces quatre modèles a été réalisée par la confrontation à tous les jeux de données mentionnées précédemment. La Table 20 présente, pour chaque attribut sensoriel, le R² et l'erreur de prédiction (RMSE) sachant que les échelles de notation des attributs sont dans tous les cas des échelles de 0 à 10.

Les résultats de ces différents sets de validations montrent que le modèle prédictif pour l'acidité est peu performant. Il présente des R² faibles et une erreur de prédictions relativement élevée dans un jeu de données. Cette moindre performance du modèle pour l'acidité perçue renvoie d'une part à notre choix d'étudier simultanément la quantité d'acide et le pH alors que l'un et l'autre ne sont pas strictement corrélés. Il conviendrait d'envisager

une étude plus approfondie des interactions entre le pH et les acides organiques (malique et lactique principalement) pour améliorer la prédiction de l'acidité perçue. D'autre part, il faut également reconnaître que les dégustateurs ont avoué une plus grande difficulté à évaluer cette dimension sensorielle dans une solution gazeuse ce qui peut générer également des biais.

Table 20 : Coefficients de corrélation et RMSE obtenus lors de la validation des modèles prédictifs pour chaque attribut sensoriel

Attributs prédits	BDD Casdar Cidre n=47		BDD Le Quéré (2006) n=90		BDD Arome avec pince -nez n=16		BDD Arome Sans pince -nez n=16	
	R ²	RMSE	R ²	RMSE	R ²	RMSE	R ²	RMSE
Sucre	0,722	1,026	0,623	0,430	0,780	0,532	0,597	0,774
Acide	0,068	1,642	0,160	0,402	0,629	0,549	0,695	0,711
Amer	0,880	0,625	0,687	0,334	0,671	0,804	0,644	0,849
Astringent	0,805	0,805	0,684	0,470	0,482	1,339	0,557	1,269

Le goût sucré est prédit de manière satisfaisante dans les trois jeux de donnée étudiés. On note en revanche que le modèle perd de sa performance quand on compare les résultats issus de la validation avec les 16 cidres avec et sans pince-nez. Avec pince-nez, donc sans intervention des arômes, le R² est de 0,78 et le RMSE de 0,53. Ils passent respectivement à 0,60 et 0,77 quand les dégustateurs n'ont pas de pince-nez et subissent donc l'impact de l'arôme sur leur perception gustative. Ce résultat confirme l'importance des arômes sur la perception du goût sucré. Quand les sujets perçoivent les arômes, nous avons montré que le goût sucré de certains cidres était modifié ce qui explique la diminution de la qualité du modèle car cette dimension n'est pas prise en compte. De là, il conviendra de trouver un moyen d'intégrer la perception de notes aromatiques spécifiques ou de composés aromatiques quantifiés dans les modèles prédictifs pour les améliorer. Il faudrait plus précisément intégrer la particularité que nous avons observée dans les cidres d'une interaction arôme-goût sucré n'intervenant que dans une plage restreinte de concentrations en sucres totaux autour de 35-40 g/L.

La qualité des modèles obtenus pour l'amertume et l'astringence est correcte. L'intégration du DPmoyen parmi les facteurs, sans passer par la composition précise en chaque DP, suffit à bien rendre compte de l'amertume et de l'astringence des cidres. On peut cependant s'interroger sur la moindre qualité de prédiction des cidres issus de l'expérimentation sur les arômes. Doit-on imputer cela à des particularités des 16 cidres retenus, à des artefacts liés à la difficulté de travailler avec les pince-nez, ou simplement à une moindre performance du panel qui a beaucoup plus longtemps travaillé sur des solutions modèles sans gaz et qui a, malgré plusieurs séances d'entraînement, été un peu moins cohérent sur l'amertume et l'astringence que les panels expérimentés des deux autres jeux de données ?

1.3. D'autres variables à intégrer

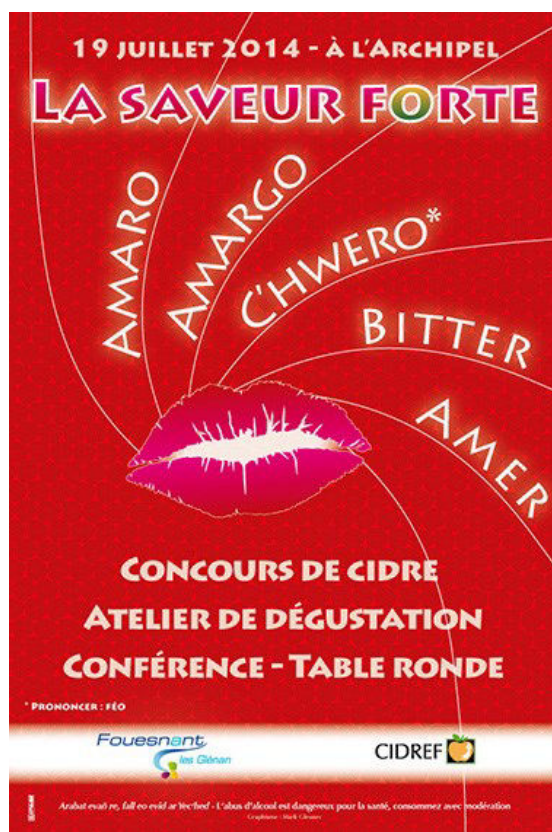
Finalement, si nos travaux ont permis d'avancer sur le rôle de plusieurs composés chimiques dans la perception des sensations en bouche, nous n'avons sans doute pas fait le tour de la question et d'autres variables mériteraient d'être étudiées pour mieux comprendre, pour mieux maîtriser les caractéristiques gustatives des cidres.

L'objectivation de l'impact de la transformation malolactique sur les propriétés organoleptiques des cidres et donc la comparaison entre les caractéristiques sensorielles de cidres composés majoritairement d'acide malique ou d'acide lactique seraient intéressante. Plus largement, comme nous l'avons dit précédemment, l'acidité doit encore être approfondie pour mieux comprendre comment elle se construit dans la matrice cidre. D'ailleurs, le rôle du CO₂ avec plusieurs concentrations pourrait également faire l'objet d'études particulières. En effet, le dioxyde de carbone module la perception de l'acidité. Mais au-delà, il n'existe aucun travail faisant le lien entre les caractéristiques sensorielles et physico-chimiques des cidres et la perception de l'effervescence.

Par ailleurs, on peut également s'interroger sur l'impact de la présence de polysaccharide dans le cidre, sachant que Vidal et al. (2004a) ont montré que ceux-ci peuvent modifier la perception de l'amertume et de l'astringence dans le vin. Enfin, la couleur, qui est connue pour pouvoir modifier la perception sensorielle (Maga, 1974, Strugnell, 1997, Johnson et al., 1982), mériterait également un focus particulier.

L'étude de ces différentes variables en complément de celles que nous avons analysées dans ce manuscrit permettrait de rendre les modèles prédictifs plus robustes.

Partie V. Conclusions



À l'issue de ce manuscrit, nous confirmons que les procyanidines sont bien des composés chimiques influant de façon déterminante sur l'amertume et l'astringence mais également sur le goût sucré et l'acidité des cidres. La concentration en procyanidines est primordiale pour ces quatre caractéristiques sensorielles mais le profil des procyanidines dans la matrice va également les moduler. Chaque composé (fructose, acide malique, éthanol et procyanidines) intervient à des niveaux différents dans la construction des quatre sensations étudiées. Par ailleurs, le dioxyde de carbone modifie sensiblement la perception des saveurs et particulièrement celle de l'acidité. Enfin, les arômes peuvent modifier légèrement le goût sucré de certains cidres.

Sur le plan pratique, l'utilisation de ces résultats peut se faire dans deux directions. Tout d'abord, il est possible d'étudier l'impact de chaque composé sur les caractéristiques sensorielles. Mais on peut également regarder ce qui permet de moduler une saveur en particulier. Ainsi, celui qui souhaite connaître la conséquence d'une modification de la composition chimique du cidre par une technique de cidrification peut anticiper l'impact possible sur les caractéristiques organoleptiques. Parallèlement, celui qui cherche à moduler les caractéristiques sensorielles de ses cidres peut identifier des voies de modulations différentes par la composition chimique. Il lui sera alors nécessaire de chercher les opérations techniques, choix variétaux et assemblages permettant d'obtenir la composition chimique désirée et de là, les caractéristiques sensorielles souhaitées.

Le sujet de cette thèse nous a emmenés à un niveau de détail assez poussé dans les cidres, nous obligeant à déshabiller ceux-ci pour étudier leurs procyanidines (purifiés) dans des solutions modèles avec et sans ajout de gaz, à les déguster avec et sans pince-nez, bien loin de la dégustation hédonique d'un cidre Brut fermier avec une galette-saucisse, un Vendredi soir, comme à la maison. Mais, c'est à ce prix que nous apportons un peu de connaissance pour la maîtrise des caractéristiques organoleptiques de ce produit. Il reste encore de nombreux sujets à explorer de l'additivité des procyanidines de différentes tailles à l'influence de la couleur sur la perception en passant par la maîtrise de la composante aromatique des cidres. Mais n'oublions pas que, avant tout, le cidre est un produit qui doit plaire ; mieux maîtriser ses caractéristiques organoleptiques, c'est garantir une meilleure satisfaction des consommateurs...

Alors, au plaisir de déguster un verre de cidre avec vous qui aurez lu ce manuscrit...

Et comme disait mon Grand-père : Yec'hed mat !

Références

A

- AFNOR 1994. NF ISO 8586-2 : 1994 : « Analyse sensorielle – Guide général pour sélection, l'entraînement et le contrôle des sujets – Partie 2 : experts » (Indice de classement : V09-003-2)
- ALONSO-SALCES, R. M., GUYOT, S., HERRERO, C., BERRUETA, L. A., DRILLEAU, J. F., GALLO, B. & VICENTE, F. 2004. Chemometric characterisation of Basque and French ciders according to their polyphenolic profiles. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 379, 464-475.
- ALONSO-SALCES, R. M., KORTA, E., BARRANCO, A., BERRUETA, L., GALLO, B. & VICENTE, F. 2001. Determination of polyphenolic profiles of Basque cider apple varieties using accelerated solvent extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 3761-3767.
- ANTÓN, M. J., SUÁREZ VALLES, B., GARCÍA HEVIA, A. & PICINELLI LOBO, A. 2014. Aromatic Profile of Ciders by Chemical Quantitative, Gas Chromatography-Olfactometry, and Sensory Analysis. *Journal of Food Science*, 79, S92-S99.
- ARNOLD, R. A. & NOBLE, A. 1978a. Bitterness and astringency of grape seed phenolics in a model wine solution. *American Journal of Enology and Viticulture*, 29, 150-152.
- ARNOLD, R. A. & NOBLE, A. C. 1978b. Bitterness and Astringency of Grape Seed Phenolics in a Model Wine Solution. *American Journal of Enology and Viticulture*, 29, 150-152.
- ARNOLD, R. A., NOBLE, A. C. & SINGLETON, V. L. 1980. Bitterness and astringency of phenolic fractions in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28, 675-678.
- AUVRAY, M. & SPENCE, C. 2008. The multisensory perception of flavor. *Consciousness and cognition*, 17, 1016-1031.

B

- BAUDUIN, R. 2011. Incidence des conditions de récolte et de stockage sur la qualité des fruits à transformer et des produits finis. *Pomme à Cidre*, 28, 1-3.
- BAUDUIN, R., GILLES, Y., GUICHARD, H. & POUPARD, P. 2012. Les arômes des cidres. *Pomme à Cidre*, 30, 15-18.
- BAUDUIN, R. & LE QUÉRÉ, J. M. 2012. Cidre et polyphénols : modulation de l'amertume et de l'astringence. *Pomme à Cidre*, 32, 15-17.
- BAVAY, C., BROCKHOFF, P. B., KUZNETSOVA, A., MAÎTRE, I., MEHINAGIC, E. & SYMONEAUX, R. 2014. Consideration of sample heterogeneity and in-depth analysis of individual differences in sensory analysis. *Food Quality and Preference*, 32, Part A, 126-131.
- BEHRENS, M. & MEYERHOF, W. Year. Bitter taste receptor research comes of age: From characterization to modulation of TAS2Rs. *In: Seminars in cell & developmental biology*, 2013. Elsevier, 215-221.
- BLANCO-GOMIS, D., MANGAS-ALONSO, J. J., EXPÓSITO-CIMADEVILLA, Y. & GUTIÉRREZ-ÁLVAREZ, M. D. 2010. Characterization of cider by its hydrophobic protein profile and foam parameters. *Food Chemistry*, 121, 220-226.
- BOAKES, R. A. & HEMBERGER, H. 2012. Odour-modulation of taste ratings by chefs. *Food Quality and Preference*, 25, 81-86.
- BORÉ, J. M. & FLECKINGER, J. 1997. *Pommiers à cidre - variétés de France*, INRA.
- BOUTTEVILLE, L., HAUCHECORNE, A. & GASTRONOMY, K. G. B. C. O. 1875. *Le cidre: traité rédigé d'après les documents recueillis de 1864 à 1872 par le Congrès pour l'étude des fruits à cidre*, Léon Deshayes.
- BOYLSTON, T. D., WANG, H., REITMEIER, C. A. & GLATZ, B. A. 2003. Effects of Processing Treatment and Sorbate Addition on the Flavor Characteristics of Apple Cider. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1924-1931.
- BRANNAN, G. D., SETSER, C. S. & KEMP, K. E. 2001. Interaction of astringency and taste characteristics. *Journal of Sensory Studies*, 16, 179-197.
- BRESLIN, P. A. S. 1996. Interactions among salty, sour and bitter compounds. *Trends in Food Science and Technology*, 7, 390-399.

- BRESLIN, P. A. S., GILMORE, M. M., BEAUCHAMP, G. K. & GREEN, B. G. 1993 Psychophysical evidence that oral astringency is a tactile sensation *Chemical Senses* 18, 405-417.
- BRONDEL, L., JACQUIN, A., MEILLON, S. & PÉNICAUD, L. 2013. Le goût: physiologie, rôles et dysfonctionnements. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 27, 123-133.
- BROSSAUD, F., CHEYNIER, V. & NOBLE, A. C. 2001. Bitterness and astringency of grape and wine polyphenols. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7, 33-39.
- BRUGIRARD, A. & TAVERNIER, J. 1952. Les matières tannoïdes dans les cidres et les poirés. *Annales de Technologie Agricole*, 3, 311-343.
- BUETTNER, A. & BEAUCHAMP, J. 2010. Chemical input - Sensory output: Diverse modes of physiology-flavour interaction. *Food Quality and Preference*, 21, 915-924.
- BURNS, D. J. W. & NOBLE, A. C. 1985. Evaluation of the separate contributions of viscosity and sweetness of sucrose to perceived viscosity, sweetness and bitterness of vermouth. *Journal of Texture Studies*, 16, 365-380.
- BURON, N., GUICHARD, H., COTON, E., LEDAUPHIN, J. & BARILLIER, D. 2011. Evidence of 4-ethylcatechol as one of the main phenolic off-flavour markers in French ciders. *Food Chemistry*, 125, 542-548.
- BURSEG, K. M. M., CAMACHO, S., KNOOP, J. & BULT, J. H. F. 2010. Sweet taste intensity is enhanced by temporal fluctuation of aroma and taste, and depends on phase shift. *Physiology & Behavior*, 101, 726-730.

C

- CALVIÑO, A. M., GARCÍA-MEDINA, M. R., COMETTO-MUNIZ, J. E., RODRÍGUEZ, M. B. & DE FISIOLÓGÍA, C. 1993. Perception of sweetness and bitterness in different vehicles. *Attention, Perception, & Psychophysics*, 54, 751-758.
- CARSTENS, E., IODI CARSTENS, M., DESSIRIER, J.-M., O'MAHONY, M., SIMONS, C. T. & SUDO, S. 2002. It hurts so good: oral irritation by spices and carbonated drinks and the underlying neural mechanisms. *Food Quality and Preference*, 13, 431-443.
- CAUSSE, M., SALIBA-COLOMBANI, V., LECOMTE, L., DUFFE, P., ROUSSELLE, P. & BURET, M. 2002. QTL analysis of fruit quality in fresh market tomato: a few chromosome regions control the variation of sensory and instrumental traits. *Journal of Experimental Botany*, 53, 2089-2098.
- CHANDRASHEKAR, J., HOON, M. A., RYBA, N. J. & ZUKER, C. S. 2006. The receptors and cells for mammalian taste. *Nature*, 444, 288-294.
- CHANDRASHEKAR, J., YARMOLINSKY, D., VON BUCHHOLTZ, L., OKA, Y., SLY, W., RYBA, N. J. P. & ZUKER, C. S. 2009. The Taste of Carbonation. *Science*, 326, 443-445.
- CHARLES, M. 2013. *Contribution aux réflexions méthodologiques relatives à l'étude des préférences des consommateurs et à l'étude des interactions sensorielles : application au modèle pomme*. PhD, Université d'Angers.
- CHARLES, M., POINOT, P., TEXIER, F., ARVISENET, G., VIGNEAU, E., MEHINAGIC, E. & PROST, C. 2013. The 'Mouth to Nose Merging System': A novel approach to study the impact of odour on other sensory perceptions. *Food Quality and Preference*, 28, 264-270.
- CHARLTON, A. J., BAXTER, N. J., KHAN, M. L., MOIR, A. J. G., HASLAM, E., DAVIES, A. P. & WILLIAMSON, M. P. 2002. Polyphenol/Peptide Binding and Precipitation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1593-1601.
- CHAUDHARI, N. & ROPER, S. D. 2010. The cell biology of taste. *The Journal of cell biology*, 190, 285-296.
- CHIALVA, F. & DADA, G. 1990. Bitterness in alcoholic beverages. *Developments in food science*, 25, 103-122.
- CHIRA, K., PACELLA, N., JOURDES, M. & TEISSEDE, P. L. 2011. Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet-Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age. *Food Chemistry*, 126, 1971-1977.
- CLARK, C. C. & LAWLESS, H. T. 1994. Limiting response alternatives in time-intensity scaling: an examination of the halo-dumping effect. *Chemical Senses*, 19, 583-594.
- CLARK, R., HEWSON, L., BEALIN-KELLY, F. & HORT, J. 2011. The Interactions of CO₂, Ethanol, Hop Acids and Sweetener on Flavour Perception in a Model Beer. *Chemosensory Perception*, 4, 42-54.

- CLIQUET, S., DURIER, C. & KOBILINSKI, A. 1993. La planification expérimentale : exemples de plans d'expériences pour l'optimisation de la production de *Bradyrhizobium japonicum*. *Cahier des Techniques de l'Inra*, 32, 47-68.
- COMETTO-MUNIZ, J. E., GARCIA-MEDINA, M. R., CALVINO, A. M. & NORIEGA, G. 1987. Interactions between CO₂ oral pungency and taste. *Perception*, 16, 629-40.
- COWART, B. J. 1998. The Addition of CO₂ to Traditional Taste Solutions Alters Taste Quality. *Chemical Senses*, 23, 397-402.
- CRAN 2011. L'effervescence des cidres. *Maitrise des caractéristiques organoleptiques des cidres*.

D

- DEFAZIO, R. A., DVORYANCHIKOV, G., MARUYAMA, Y., KIM, J. W., PEREIRA, E., ROPER, S. D. & CHAUDHARI, N. 2006. Separate populations of receptor cells and presynaptic cells in mouse taste buds. *Journal of Neuroscience*, 26, 3971-3980.
- DELWICHE, J. 2004. The impact of perceptual interactions on perceived flavor. *Food Quality and Preference*, 15, 137-146.
- DESSIRIER, J.-M., SIMONS, C. T., CARSTENS, M. I., O'MAHONY, M. & CARSTENS, E. 2000. Psychophysical and neurobiological evidence that the oral sensation elicited by carbonated water is of chemogenic origin. *Chemical Senses*, 25, 277-284.
- DIDIER, A. 2011. Synthèse du projet : Le cidre : d'une logique de l'offre vers une démarche marketing de la demande. Caen: Chambre Regionale d'Agriculture de Normandie.
- DIDIER, A., SYMONEAUX, R., SCHLICH, P., SYBIRIL, S., DROGER, D., BAUDUIN, R., GILLES, Y., SANONER, P., LEQUÉRÉ, J. M., SIMON, J. P., RAIMBAUD, F. J., DECHATRE, J. C., LEPAGE, A., SIMARD, V., DESVIGNES, M. & LEGENDRE, P. 2012. Le cidre, d'une logique de l'offre vers une démarche marketing de la demande. *Innovations Agronomiques* 25.
- DJORDJEVIC, J., ZATORRE, R. & JONES-GOTMAN, M. 2004. Odor-induced changes in taste perception. *Experimental brain research*, 159, 405-408.
- DROESBEKE, J.-J., SAPORTA, G. & FINE, J. 1997. *Plans d'expériences : applications à l'entreprise*, Paris, Editions Technip.
- DUFOUR, C. & BAYONOVE, C. L. 1999. Interactions between wine polyphenols and aroma substances. An insight at the molecular level. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 678-684.
- DUVAL, L. 1896. *Essai historique sur le cidre et le poiré*, Paris, Octave Doin.

E

- E.N.C.C.R.F 1953. Décret N° 53-978 du 30 septembre 1953 relatif à l'orientation de la production cidricole et à la commercialisation des cidres, des poirés et de certaines boissons similaires. Journal officiel de la République Française.

F

- FERRER-GALLEGO, R., HERNÁNDEZ-HIERRO, J. M., RIVAS-GONZALO, J. C. & ESCRIBANO-BAILÓN, M. T. 2014. Sensory evaluation of bitterness and astringency sub-qualities of wine phenolic compounds: synergistic effect and modulation by aromas. *Food Research International*, 62, 1100-1107.
- FISCHER, U. & NOBLE, A. C. 1994. The Effect of Ethanol, Catechin Concentration, and pH on Sourness and Bitterness of Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45, 6-10.
- FONTOIN, H., SAUCIER, C., TEISSEDRE, P.-L. & GLORIES, Y. 2008. Effect of pH, ethanol and acidity on astringency and bitterness of grape seed tanin oligomers in model wine solution. *Food Quality and Preference*, 19, 286-291.
- FRANCEAGRIMER 2012. Plan strategique 2011 – 2013 sur la politique de soutien sur la promotion et la communication des produits cidricoles français. Paris.
- FRANCEAGRIMER. 2014. *Cidriculture : La filière en bref* [Online]. Available: <http://www.franceagrimer.fr/filiere-vin-et-cidriculture/Cidriculture/La-filiere-en-bref> [Accessed 2014].
- FRANÇOIS, N., GUYOT-DECLERCK, C., HUG, B., CALLEMIEN, D., GOVAERTS, B. & COLLIN, S. 2006. Beer astringency assessed by time-intensity and quantitative descriptive analysis: Influence of pH and accelerated aging. *Food Quality and Preference*, 17, 445-452.

- FRANK, R. A. & BYRAM, J. 1988. Taste–smell interactions are tastant and odorant dependent. *Chemical Senses*, 13, 445-455.
- FRANK, R. A., VAN DER KLAUW, N. J. & SCHIFFERSTEIN, H. N. 1993a. Both perceptual and conceptual factors influence taste-odor and taste-taste interactions. *Perception & Psychophysics*, 54, 343-354.
- FRANK, R. A., VAN DER KLAUW, N. J. & SCHIFFERSTEIN, H. N. J. 1993b. Both perceptual and conceptual factors influence taste-odor and taste-taste interactions. *Perception & Psychophysics*, 54, 343-354.
- FRIJTERS, J. E. 1987. Psychophysical models for mixtures of tastants and mixtures of odorants. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 510, 67-78.

G

- GALLART, M., TOMÁS, X., SUBERBIOLA, G., LÓPEZ-TAMAMES, E. & BUXADERAS, S. 2004. Relationship between foam parameters obtained by the gas-sparging method and sensory evaluation of sparkling wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 127-133.
- GAUDETTE, N. J. & PICKERING, G. J. 2013. Modifying bitterness in functional food systems. *Critical reviews in food science and nutrition*, 53, 464-481.
- GAWEL, R. 1998. Red wine astringency: a review. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 4, 74-95.
- GIBBINS, H. L. & CARPENTER, G. H. 2013. Alternative mechanisms of astringency – What is the role of saliva? *Journal of Texture Studies*, 44, 364-375.
- GREEN, B. G. 1993. Oral astringency: A tactile component of flavor. *Acta psychologica*, 84, 119-125.
- GREEN, B. G., LIM, J., OSTERHOFF, F., BLACHER, K. & NACHTIGAL, D. 2010a. Taste mixture interactions: Suppression, additivity, and the predominance of sweetness. *Physiology & Behavior*, 101, 731-737.
- GREEN, B. G., LIM, J., OSTERHOFF, F., BLACHER, K. & NACHTIGAL, D. 2010b. Taste mixture interactions: suppression, additivity, and the predominance of sweetness. *Physiology & Behavior*, 101, 731-737.
- GUICHARD, E. & VOILLEY, A. 2012. *Texture et flaveur des aliments: vers une conception maîtrisée*, Educagri Editions.
- GUILLERMIN, P., DUPONT, N., LE MORVAN, C., LE QUÉRÉ, J. M., LANGLAIS, C. & MAUGET, J. C. 2006. Rheological and technological properties of two cider apple cultivars. *LWT - Food Science and Technology*, 39, 995-1000.
- GUINARD, J.-X., PANGBORN, R. M. & LEWIS, M. J. 1986. The Time-Course of Astringency in Wine upon Repeated Ingestion. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37, 184-189.
- GUYOT, S., MARNET, N., LARABA, D., SANONER, P. & DRILLEAU, J.-F. 1998. Reversed-Phase HPLC following Thiolyis for Quantitative Estimation and Characterization of the Four Main Classes of Phenolic Compounds in Different Tissue Zones of a French Cider Apple Variety (*Malus domestica* Var. Kermerrien). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 1698-1705.
- GUYOT, S., MARNET, N., SANONER, P. & DRILLEAU, J.-F. 2003. Variability of the Polyphenolic Composition of Cider Apple (*Malus domestica*) Fruits and Juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6240-6247.

H

- HARBERTSON, J. F., KILMISTER, R. L., KELM, M. A. & DOWNEY, M. O. 2014. Impact of condensed tannin size as individual and mixed polymers on bovine serum albumin precipitation. *Food Chemistry*, 160, 16-21.
- HASLAM, E. 1980. In vino veritas: Oligomeric procyanidins and the ageing of red wines. *Phytochemistry*, 19, 2577-2582.
- HEWSON, L., HOLLOWOOD, T., CHANDRA, S. & HORT, J. 2009. Gustatory, Olfactory and Trigeminal Interactions in a Model Carbonated Beverage. *Chemosensory Perception*, 2, 94-107.
- HUBERT, B., BARON, A., LE QUERE, J.-M. & RENARD, C. M. 2007. Influence of prefermentary clarification on the composition of apple musts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 5118-5122.
- HUSSON, F., BOCQUET, V. & PAGÈS, J. 2004. Use of confidence ellipses in a PCA applied to sensory analysis application to the comparison of monovarietal ciders. *Journal of Sensory Studies*, 19, 510-518.
- HUSSON, F., JOSSE, J., LE, S. & MAZET, J. 2013. FactoMineR: multivariate exploratory data analysis and data mining with R. *R package version*, 1, 102-123.

I

ISHIKAWA, T. & NOBLE, A. C. 1995. Temporal perception of astringency and sweetness in red wine. *Food Quality and Preference*, 6, 27-33.

ISO 2012. ISO 11132:2012 Sensory analysis — Methodology — Guidelines for monitoring the performance of a quantitative sensory panel.

J

JOHNSON, J., DZENDOLET, E., DAMON, R., SAWYER, M. & CLYDESDALE, F. 1982. Psychophysical relationships between perceived sweetness and color in cherry-flavored beverages. *Journal of Food Protection*, 45.

K

KALLITHRAKA, S., BAKKER, J. & CLIFFORD, M. N. 1997a. Effect of pH on astringency in model solutions and wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2211-2116.

KALLITHRAKA, S., BAKKER, J. & CLIFFORD, M. N. 1997b. Evaluation of bitterness and astringency of (+)-catechin and (-)-epicatechin in red wine and in model solution. *Journal of Sensory Studies*, 12.

KALLITHRAKA, S., BAKKER, J. & CLIFFORD, M. N. 1997c. Red Wine and Model Wine Astringency as Affected by Malic and Lactic Acid. *Journal of Food Science*, 62, 416-420.

KAMEN, J. M., PILGRIM, F. J., GUTMAN, N. J. & KROLL, B. J. 1961. Interactions of suprathreshold taste stimuli. *Journal of experimental psychology*, 62, 348.

KASSARA, S. & KENNEDY, J. A. 2011. Relationship between Red Wine Grade and Phenolics. 2. Tanin Composition and Size. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 8409-8412.

KEAST, R. S. J. 2008. Modification of the bitterness of caffeine. *Food Quality and Preference*, 19, 465-472.

KEAST, R. S. J. & BRESLIN, P. A. S. 2003. An overview of binary taste-taste interactions. *Food Quality and Preference*, 14, 111-124.

KEAST, R. S. J., BRESLIN, P. A. S. & BEAUCHAMP, G. K. 2001. Suppression of Bitterness Using Sodium Salts. *CHIMIA International Journal for Chemistry*, 55, 441-447.

KELM, M. A., JOHNSON, J. C., ROBBINS, R. J., HAMMERSTONE, J. F. & SCHMITZ, H. H. 2006. High-Performance Liquid Chromatography Separation and Purification of Cacao (*Theobroma cacao* L.) Procyanidins According to Degree of Polymerization Using a Diol Stationary Phase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 1571-1576.

KENNEDY, J. A. & JONES, G. P. 2001. Analysis of Proanthocyanidin Cleavage Products Following Acid-Catalysis in the Presence of Excess Phloroglucinol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1740-1746.

L

LABBE, D., DAMEVIN, L., VACCHER, C., MORGENEGG, C. & MARTIN, N. 2006. Modulation of perceived taste by olfaction in familiar and unfamiliar beverages. *Food Quality and Preference*, 17, 582-589.

LAVIN, J. G. & LAWLESS, H. T. 1998. Effects of color and odor on judgments of sweetness among children and adults. *Food Quality and Preference*, 9, 283-289.

LE BOURVELLEC, C., LE QUERE, J.-M. & RENARD, C. M. G. C. 2007. Impact of Noncovalent Interactions between Apple Condensed Tanins and Cell Walls on Their Transfer from Fruit to Juice: Studies in Model Suspensions and Application. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 7896-7904.

LE CALVÉ, B., GOICHON, H. & CAYEUX, I. Year. CO₂ perception and its influence on flavour. In: BLANK, I., WÜST, M. & YERETZIAN, C., eds. Expression of Multidisciplinary Flavour Science - 12th Weurman Symposium, 2008 Interlaken,.

LE PAULMIER DE GRANTEMESNIL, J. 1589 *Traité du vin et du sidre (De vino et pomaco)*, Paris, Guillelmum Auvray.

LE QUÉRÉ, J.-M., HUSSON, F., RENARD, C. M. G. C. & PRIMAULT, J. 2006. French cider characterization by sensory, technological and chemical evaluations. *LWT - Food Science and Technology*, 39, 1033-1044.

LE, S. & HUSSON, F. 2008. SensoMiner: a package for sensory data analysis. *Journal of Sensory Studies*, 23, 14-25.

LEA, A. G. 1978. The phenolics of ciders: Oligomeric and polymeric procyanidins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29, 471-477.

- LEA, A. G. 1990. Bitterness and astringency: the procyanidins of fermented apple ciders. *Developments in food science*, 25, 123-143.
- LEA, A. G. & ARNOLD, G. M. 1978. The phenolics of cider: bitterness and astringency. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29, 478-483.
- LEA, A. G. & DRILLEAU, J. F. 2003. Cidermaking. In: LEA, A. G. & PIGGOTT, J. R. (eds.) *Fermented Beverage Production*. New York: Kluwer Academic / Plenum Publishers.
- LEDERER, C. L., BODYFELT, F. W. & MCDANIEL, M. R. 1991. The Effect of Carbonation Level on the Sensory Properties of Flavored Milk Beverages. *Journal of Dairy Science*, 74, 2100-2108.
- LEE, C. B. & LAWLESS, H. T. 1991. Time-course of astringent sensations. *Chemical Senses*, 16, 225-238.
- LEQUÉRE, J. M. & BAUDUIN, R. 2014. La clarification des moûts de pomme par gélification des pectines. *Pomme à Cidre*, 36, 15-19.
- LESSCHAEVE, I. & NOBLE, A. C. 2005. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. *The American journal of clinical nutrition*, 81, 330S.
- LIM, J., FUJIMARU, T. & LINSKOTT, T. D. 2014. The role of congruency in taste-odor interactions. *Food Quality and Preference*, 34, 5-13.
- LORRAIN, B., TEMPERE, S., ITURMENDI, N., MOINE, V., DE REVEL, G. & TEISSEDRE, P.-L. 2013. Influence of phenolic compounds on the sensorial perception and volatility of red wine esters in model solution: An insight at the molecular level. *Food Chemistry*, 140, 76-82.
- LYMAN, B. J. & GREEN, B. G. 1990. Oral astringency: effects of repeated exposure and interactions with sweeteners. *Chemical Senses*, 15, 151-164.
- ## M
- MA, W., GUO, A., ZHANG, Y., WANG, H., LIU, Y. & LI, H. 2014. A review on astringency and bitterness perception of tanins in wine. *Trends in Food Science & Technology*.
- MADRERA, R. R., HEVIA, A. G., GARCÍA, N. P. & VALLES, B. S. 2008. Evolution of aroma compounds in sparkling ciders. *LWT - Food Science and Technology*, 41, 2064-2069.
- MAGA, J. 1974. Influence of color on taste thresholds. *Chemical Senses*, 1, 115-119.
- MAIPROCI 2011. Maitrise des Procédés Cidricoles. Financée par les régions Pays de la Loire, Bretagne, Basse Normandie.
- MANGAS, J., CABRANES, C., MORENO, J. & GOMIS, D. 1994. Influence of cider-making technology on cider taste. *LWT-Food Science and Technology*, 27, 583-586.
- MARTIN, S. & PANGBORN, R. M. 1970. Taste interaction of ethyl alcohol with sweet, salty, sour and bitter compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 21, 653-655.
- MATTES, R. D. & DIMEGLIO, D. 2001. Ethanol perception and ingestion. *Physiology and Behavior*, 72, 217-229.
- MAURY, C., SARNI-MANCHADO, P., LEFEBVRE, S., CHEYNIER, V. & MOUTOUNET, M. 2001. Influence of Fining with Different Molecular Weight Gelatins on Proanthocyanidin Composition and Perception of Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52, 140-145.
- MC LEOD, P., SAUVAGEOT, F. & KÖSTER, E. P. 2009 Les caractéristiques d'une réponse sensorielle. In: LAVOISIER (ed.) *Evaluation sensorielle: Manuel méthodologique*. Paris: SSHA.
- MCMANUS, J. P., DAVIS, K. G., LILLEY, T. H. & HASLAM, E. 1981. The association of proteins with polyphenols. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*.
- MONAGAS, M., GÓMEZ-CORDOVÉS, C., BARTOLOMÉ, B., LAUREANO, O. & RICARDO DA SILVA, J. M. 2003. Monomeric, Oligomeric, and Polymeric Flavan-3-ol Composition of Wines and Grapes from *Vitis vinifera* L. Cv. Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6475-6481.
- MONTMAYEUR, J.-P. & MATSUNAMI, H. 2002. Receptors for bitter and sweet taste. *Current opinion in neurobiology*, 12, 366-371.
- MURPHY, C. & CAIN, W. S. 1980. Taste and olfaction: independence vs interaction. *Physiology & Behavior*, 24, 601-605.
- MYERS, R. H., MONTGOMERY, D. C. & ANDERSON-COOK, C. M. 2009. *Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments*, John Wiley & Sons.

N

- NOBLE, A. 1994. Bitterness in wine. *Physiology & Behavior*, 56, 1251-1255.
- NOBLE, A. C. 1998. Why Do Wines Taste Bitter and Feel Astringent? *Chemistry of Wine Flavor*. American Chemical Society.
- NOGUEIRA, A., GUYOT, S., MARNET, N., LEQUÉRÉ, J. M., DRILLEAU, J. F. & WOSIACKI, G. 2008a. Effect of alcoholic fermentation in the content of phenolic compounds in cider processing. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51, 1025-1032.
- NOGUEIRA, A., QUÉRÉ, J. M. L., GESTIN, P., MICHEL, A., WOSIACKI, G. & DRILLEAU, J. F. 2008b. Slow Fermentation in French Cider Processing due to Partial Biomass Reduction. *Journal of the Institute of Brewing*, 114, 102-110.

P

- PAGÈS, J. & HUSSON, F. 2001. Inter-laboratory comparison of sensory profiles: methodology and results. *Food Quality and Preference*, 12, 297-309.
- PANOVSKA, Z., SEDIVA, A., JEDELSKA, M. & POKORNY, J. 2008. Effect of ethanol on interactions of bitter and sweet tastes in aqueous solutions. *Czech Journal of Food Sciences*, 26, 139-145.
- PASSE, D. H., HORN, M. & MURRAY, R. 1997. The effects of beverage carbonation on sensory responses and voluntary fluid intake following exercise. *International journal of sport nutrition*, 7, 286-297.
- PELEG, H., GACON, K., SCHLICH, P. & NOBLE, A. C. 1999. Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1123-1128.
- PELLETIER, C. A., LAWLESS, H. T. & HORNE, J. 2004. Sweet-sour mixture suppression in older and young adults. *Food Quality and Preference*, 15, 105-116.
- PICINELLI LOBO, A., TASCÓN, N. F., MADRERA, R. R. & VALLES, B. S. 2005. Sensory and Foaming Properties of Sparkling Cider. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 10051-10056.
- PIGGOTT, J. & WATSON, M. 1992. A COMPARISON OF FREE-CHOICE PROFILING AND THE REPERTORY GRID METHOD IN THE FLAVOR PROFILING OF CIDER. *Journal of Sensory Studies*, 7, 133-145.
- POINOT, P., ARVISENET, G., LEDAUPHIN, J., GAILLARD, J.-L. & PROST, C. 2013. How can aroma-related cross-modal interactions be analysed? A review of current methodologies. *Food Quality and Preference*, 28, 304-316.
- POINOT, P., ARVISENET, G., TEXIER, F., LETHUAUT, L., MEHINAGIC, E., VIGNEAU, E. & PROST, C. 2011. Use of sense masking to study sensory modalities singly: Interest for the understanding of apple in-mouth perception. *Food Quality and Preference*, 22, 573-580.
- PÖTTERING, H. G. & NECAS, P. 2009. Directives 2009/32/ce concernant les solvants d'extraction utilisés dans la fabrication des denrées alimentaires et de leurs ingrédients. Strasbourg: Journal Officiel de l'Union Européenne.
- PRESCOTT, J. 1999. Flavour as a psychological construct: implications for perceiving and measuring the sensory qualities of foods. *Food Quality and Preference*, 10, 349-356.
- PRESCOTT, J., STEVENSON, R. J. & BOAKES, R. A. 1996. Sweetness as an olfactory quality: relationship to tasted sweetness. *Chemical Senses*, 21, 656.
- PRIMAULT, J. & PIFFARD, B. 2008. Itinéraires technique et compositions des jus. *Pomme à Cidre*, 20.

R

- RENARD, C. M. G. C., LE QUÉRÉ, J. M., BAUDUIN, R., SYMONEAUX, R., LE BOURVELLEC, C. & BARON, A. 2011. Modulating polyphenolic composition and organoleptic properties of apple juices by manipulating the pressing conditions. *Food Chemistry*, 124, 117-125.
- RIBÉREAU-GAYON, J., DUBOURDIEU, D., DOMÈCHE, B. & LONVAUD, A. 2004. Traité d'oenologie-Tome 1 Microbiologie du vin - Vinification. Dunod.
- RICARDO-DA-SILVA, J., BOURZEIX, M., CHEYNIER, V. & MOUTOUNET, M. 1991. Procyanidin composition of Chardonnay, Mauzac and Grenache blanc grapes. *Vitis*, 30, 245-252.

- RIEKSTINA-DOLGE, R., KRUMA, Z., DIMINS, F., STRAUMITE, E. & KARKLINA, D. 2014. Phenolic Composition and Sensory Properties of Ciders Produced from Latvian Apples. *Proceedings of the Latvia University of Agriculture*, 31, 39-45.
- RIEKSTINA-DOLGE, R., KRUMA, Z., KARKLINA, D., TREIJA, S. & SKUJA, I. Year. Sensory properties and chemical composition of cider depending on apple variety. In: Annual 18th International Scientific Conference "Research for Rural Development", Jelgava, Latvia, 16-18 May 2012. Volume 1., 2012. Latvia University of Agriculture, 102-108.
- RIEKSTINA-DOLGE, R., KRUMA, Z., STRAUMITE, E. & KARKLINA, D. 2013. The Effect of Blending on Sensory Characteristics of Apple Cider. *International Proceedings of Chemical, Biological & Environmental Engineering*, 53.
- ROBICHAUD, J., L. & NOBLE, A., C. 1990. Astringency and bitterness of selected phenolics in wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 53, 343-353.
- ROLAND, W. S. U., VAN BUREN, L., GRUPPEN, H., DRIESSE, M., GOUKA, R. J., SMIT, G. & VINCKEN, J.-P. 2013. Bitter Taste Receptor Activation by Flavonoids and Isoflavonoids: Modeled Structural Requirements for Activation of hTAS2R14 and hTAS2R39. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 10454-10466.
- ROPER, S. D. Year. Taste buds as peripheral chemosensory processors. In: Seminars in cell & developmental biology, 2013. Elsevier, 71-79.
- ROSS, C. F., HINKEN, C. & WELLER, K. 2007. Efficacy of palate cleansers for reduction of astringency carryover during repeated ingestions of red wine. *Journal of Sensory Studies*, 22, 293-312.
- RYE, G. G. & MERCER, D. G. 2003. Changes in headspace volatile attributes of apple cider resulting from thermal processing and storage. *Food Research International*, 36, 167-174.

S

- SÁENZ-NAVAJAS, M.-P., CAMPO, E., AVIZCURI, J. M., VALENTIN, D., FERNÁNDEZ-ZURBANO, P. & FERREIRA, V. 2012. Contribution of non-volatile and aroma fractions to in-mouth sensory properties of red wines: Wine reconstitution strategies and sensory sorting task. *Analytica Chimica Acta*, 732, 64-72.
- SAINT-EVE, A., DÉLÉRIS, I., AUBIN, E., SEMON, E., FERON, G., RABILLIER, J.-M., IBARRA, D., GUICHARD, E. & SOUCHON, I. 2009. Influence of Composition (CO₂ and Sugar) on Aroma Release and Perception of Mint-Flavored Carbonated Beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 5891-5898.
- SAINT-EVE, A., DELERIS, I., FERON, G., IBARRA, D., GUICHARD, E. & SOUCHON, I. 2010. How trigeminal, taste and aroma perceptions are affected in mint-flavored carbonated beverages. *Food Quality and Preference*, 21, 1026-1033.
- SÁNCHEZ, A., DE REVEL, G., ANTALICK, G., HERRERO, M., GARCÍA, L. A. & DÍAZ, M. 2014. Influence of controlled inoculation of malolactic fermentation on the sensory properties of industrial cider. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 41, 853-867.
- SANONER, P., GUYOT, S., MARNET, N., MOLLE, D. & DRILLEAU, J. F. 1999. Polyphenol profiles of French cider apple varieties (*Malus domestica* sp.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4847-4853.
- SCHIFFERSTEIN, H. N. & VERLEGH, P. W. 1996. The role of congruency and pleasantness in odor-induced taste enhancement. *Acta psychologica*, 94, 87-105.
- SCHÖBEL, N., RADTKE, D., KYEREME, J., WOLLMANN, N., CICHY, A., OBST, K., KALLWEIT, K., KLETKE, O., MINOVI, A., DAZERT, S., WETZEL, C. H., VOGT-EISELE, A., GISSELMANN, G., LEY, J. P., BARTOSHUK, L. M., SPEHR, J., HOFMANN, T. & HATT, H. 2014. Astringency Is a Trigeminal Sensation That Involves the Activation of G Protein-Coupled Signaling by Phenolic Compounds. *Chemical Senses*, 39, 471-487.
- SCINSKA, A., KOROS, E., HABRAT, B., KUKWA, A., KOSTOWSKI, W. & BIENKOWSKI, P. 2000. Bitter and sweet components of ethanol taste in humans. *Drug and Alcohol Dependence*, 60, 199-206.
- SCOLLARY, G. R. 2010. GWRDC Tanin Review Grape and wine research & development corporation
- SHOJI, T., MASUMOTO, S., MORIICHI, N., KANDA, T. & OHTAKE, Y. 2006. Apple (*Malus pumila*) procyanidins fractionated according to the degree of polymerization using normal-phase chromatography and characterized by HPLC-ESI/MS and MALDI-TOF/MS. *Journal of Chromatography A*, 1102, 206-213.
- SIMONS, C. T., BOUCHER, Y. & CARSTENS, E. 2003. Suppression of Central Taste Transmission by Oral Capsaicin. *The Journal of neuroscience*, 23, 978-985.

- SIMONS, C. T., DESSIRIER, J.-M., CARSTENS, M. L., O'MAHONY, M. & CARSTENS, E. 1999. Neurobiological and psychophysical mechanisms underlying the oral sensation produced by carbonated water. *The Journal of neuroscience*, 19, 8134-8144.
- SOARES, S., KOHL, S., THALMANN, S., MATEUS, N., MEYERHOF, W. & DE FREITAS, V. 2013. Different Phenolic Compounds Activate Distinct Human Bitter Taste Receptors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 1525-1533.
- SOWALSKY, R. A. & NOBLE, A. C. 1998. Comparison of the Effects of Concentration, pH and Anion Species on Astringency and Sourness of Organic Acids. *Chemical Senses*, 23, 343-349.
- STEVENSON, R. J., PRESCOTT, J. & BOAKES, R. A. 1999. Confusing Tastes and Smells: How Odours can Influence the Perception of Sweet and Sour Tastes. *Chemical Senses*, 24, 627-635.
- STRUGNELL, C. 1997. Colour and its role in sweetness perception. *Appetite*, 28, 85-85.
- SUÁREZ VALLES, B., PANDO BEDRIÑANA, R., LASTRA QUEIPO, A. & MANGAS ALONSO, J. J. 2008. Screening of cider yeasts for sparkling cider production (Champenoise method). *Food Microbiology*, 25, 690-697.
- SUN-WATERHOUSE, D. & WADHWA, S. 2013. Industry-Relevant Approaches for Minimising the Bitterness of Bioactive Compounds in Functional Foods: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 607-627.
- SUN, B., SÁ, M. D., LEANDRO, C., CALDEIRA, I., DUARTE, F. L. & SPRANGER, I. 2013. Reactivity of Polymeric Proanthocyanidins toward Salivary Proteins and Their Contribution to Young Red Wine Astringency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 939-946.
- SYMONEAUX, R. 2012. Les consommateurs face à la diversité sensorielle des cidres. *Pomme à Cidre*, 32, 6-9.
- SYMONEAUX, R., BARON, A., MARNET, N., BAUDUIN, R. & CHOLLET, S. 2014a. Impact of apple procyanidins on sensory perception in model cider (part 1): Polymerisation degree and concentration. *LWT - Food Science and Technology*, 57, 22-27.
- SYMONEAUX, R., CHOLLET, S., BAUDUIN, R., LE QUÉRÉ, J. M. & BARON, A. 2014b. Impact of apple procyanidins on sensory perception in model cider (part 2): Degree of polymerization and interactions with the matrix components. *LWT - Food Science and Technology*, 57, 28-34.
- SYMONEAUX, R., CHOLLET, S., PATRON, C., BAUDUIN, R., LE QUÉRÉ, J.-M. & BARON, A. 2015a. Prediction of sensory characteristics of cider according to their biochemical composition: Use of a central composite design and external validation by cider professionals. *LWT - Food Science and Technology*.
- SYMONEAUX, R., CHOLLET, S., PATRON, C., BAUDUIN, R., LE QUÉRÉ, J.-M. & BARON, A. 2015b. Prediction of sensory characteristics of cider according to their biochemical composition: Use of a central composite design and external validation by cider professionals. *LWT - Food Science and Technology*, 61, 63-69.

T

- THORNGATE, J. H. & NOBLE, A. C. 1995. Sensory evaluation of bitterness and astringency of 3R(-)-epicatechin and 3S(+)-catechin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 67, 531-535.
- THUILLIER, B. 2007. *Rôle du CO₂ dans l'appréciation organoleptique des champagnes*. Université de Reims.
- TOURNIER, C., SULMONT-ROSSÉ, C., SÉMON, E., VIGNON, A., ISSANCHOU, S. & GUICHARD, E. 2009. A study on texture–taste–aroma interactions: Physico-chemical and cognitive mechanisms. *International dairy journal*, 19, 450-458.

V

- VALENTIN, D., CHREA, C. & NGUYEN, D. H. 2006. Taste-odour interactions in sweet taste perception. *Optimising sweet taste in foods*, 66-84.
- VALENTOVÁ, H., SKROVÁNKOVÁ, S., PANOVSÁ, Z. & POKORNÝ, J. 2002. Time–intensity studies of astringent taste. *Food Chemistry*, 78, 29-37.
- VIDAL, S., COURCOUX, P., FRANCIS, L., KWIATKOWSKI, M., GAWEL, R., WILLIAMS, P., WATERS, E. & CHEYNIER, V. 2004a. Use of an experimental design approach for evaluation of key wine components on mouth-feel perception. *Food Quality and Preference*, 15, 209-217.
- VIDAL, S., FRANCIS, L., GUYOT, S., MARNET, N., KWIATKOWSKI, M., GAWEL, R., CHEYNIER, V. & WATERS, E. J. 2003. The mouth-feel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine-like medium. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 564-573.

VIDAL, S., FRANCIS, L., NOBLE, A., KWIATKOWSKI, M., CHEYNIER, V. & WATERS, E. 2004b. Taste and mouth-feel properties of different types of tannin-like polyphenolic compounds and anthocyanins in wine. *Analytica Chimica Acta*, 513, 57-65.

W

WALTERS, E. D. 1996. How are bitter and sweet tastes related? *Trends in Food Science & Technology*, 7, 399-403.

WILLIAMS, A. A. 1975. The development of a vocabulary and profile assessment method for evaluating the flavour contribution of cider and perry aroma constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 26, 567-582.

Y

YAMAZAKI, T., NARUKAWA, M., MOCHIZUKI, M., MISAKA, T. & WATANABE, T. 2013. Activation of the hTAS2R14 Human Bitter-Taste Receptor by (-)-Epigallocatechin Gallate and (-)-Epicatechin Gallate. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 77, 1981-1983.

YULIANTI, F., REITMEIER, C., GLATZ, B. A. & BOYLSTON, T. 2005. Sensory, Flavor, and Microbial Analyses of Raw, Pasteurized, and Irradiated Apple Ciders. *Journal of Food Science*, 70, S153-S158.

YULIANTI, F., REITMEIER, C. A. & BOYLSTON, T. D. 2004. Consumer Sensory Evaluation and Flavor Analyses of Pasteurized and Irradiated Apple Cider with Potassium Sorbate. *Journal of Food Science*, 69, S193-S197.

Z

ZAMORA, M. C., GOLDNER, M. C. & GALMARINI, M. V. 2006. Sourness–sweetness interactions in different media: white wine, ethanol and water. *Journal of Sensory Studies*, 21, 601-611.

ZAMORA, M. C. & GUIRAO, M. 2004. Performance comparison between trained assessors and wine experts using specific sensory attributes. *Journal of Sensory Studies*, 19, 530-545.

ZANCHI, D., KONAREV, P. V., TRIBET, C., BARON, A., SVERGUN, D. I. & GUYOT, S. 2009. Rigidity, conformation, and solvation of native and oxidized tannin macromolecules in water-ethanol solution. *The Journal of chemical physics*, 130, 245103.

Index des tableaux

Table 1 : Liste des attributs sensoriels utilisés dans la littérature.	7
Table 2 : Classification des variétés cidricoles en fonction de leurs teneurs en polyphénols et acidité	16
Table 3 : References used during training.....	54
Table 4 : Composition of purified procyanidin fractions.....	55
Table 5 : Impact of Degree of Polymerization (DP) and concentration on perception.....	56
Table 6 : Procyanidin composition of the different fractions studied	66
Table 7 : Experimental design and sensory results	69
Table 8 : Probability levels of significance of the main effects and interactions	69
Table 9 : Coefficients of the general linear model for the four attributes.....	72
Table 10 : Procyanidin content of the two polyphenol fractions	81
Table 11 : References used during training.....	83
Table 12 : Standard deviation for the 12 replicates of the central point for both fractions.....	83
Table 13 : Coefficients of the predictive models and calculated R^2	88
Table 14 : Experimental design and sensory results	97
Table 15 : Probability levels of significance for the main effects and interactions.....	100
Table 16 : Reference molecules for training on cider aroma.....	112
Table 17 : Chemical composition of ciders	114
Table 18 : Results of variance analyses in the Wout.NC and W.NC and in the Arom and Wout.NC conditions .	116
Table 19 : Coefficients des regressions multiples pour chaque attribut sensoriel	130
Table 20 : Coefficients de corrélation et RMSE obtenus lors de la validation des modèles prédictifs	131

Index des figures

Figure 1 : Distribution cumulée de la teneur en sucres totaux et en alcool dans la sélection de 137 cidres .	10
Figure 2 : Distribution cumulée du pH des 137 cidres étudiés	11
Figure 3 : Structure chimique de a) (-)-épicatchine et b) du procyanidine C1	12
Figure 4 : Distribution cumulée de la concentration en procyanidines pour les 137 cidres étudiés	13
Figure 5 : Schéma des modes d'élaboration des cidres	17
Figure 6 : Cellules gustatives, bourgeons gustatifs et papilles	23
Figure 7 : Mécanisme de l'astringence pouvant apparaître dans la cavité buccale	27
Figure 8 : Visualisation d'interactions sur la courbe psychophysique	30
Figure 9 : Mean scores for bitterness as a function of the concentration of each procyanidin fraction	57
Figure 10 : Mean scores for astringency as a function of the concentration for each DP fraction	57
Figure 11 : Mean scores for sweetness as a function of the concentration for each DP fraction	58
Figure 12 : Mean scores for sourness as a function of the concentration for each DP fraction	59
Figure 13 : Pareto charts of the DP (degree of polymerization) of procyanidins, fructose, acidity, ethanol content and interactions on (a) astringency, (b) bitterness, (c) sweetness, (d) sourness.	70
Figure 14 : Effect of degree of polymerization on astringency for fructose = 20 g/L, malic acid = 5.04 g/L, pH= 3.48 (dry cider) and for fructose = 60 g/L, malic acid = 3.30 g/L and pH= 3.94 (sweet cider)	71
Figure 15 : Effect of degree of polymerization on bitterness for fructose = 20 g/L and ethanol = 5.7% Vol. (dry cider) and for fructose = 60 g/L, ethanol = 2.7% Vol. (sweet cider)	72
Figure 16 : Pareto charts showing the standardized effects of procyanidin fraction and concentration, fructose, acidity, ethanol content and interactions on (a) bitterness, (b) astringency, (c) sweetness, and (d) sourness.	85
Figure 17 : Predicted values from models as a function of the averaged observed data from the professional panel for (a) bitterness, (b) astringency, (c) sweetness, and (d) sourness.	89
Figure 18 : Pareto charts showing the standardized effects of the CO ₂ , fructose, acidity, ethanol content, polyphenol content and interactions on (a) bitterness, (b) astringency, (c) sweetness, (d) sourness.	101
Figure 19 : Astringency measured for each sample without or with CO ₂	102
Figure 20 : Interaction plot between a) CO ₂ and sugar content on sweetness and b) CO ₂ and acidity content on sourness.	104
Figure 21 : Principal Component Analysis on the average scores related to aromatic notes	115
Figure 22 : Mean values of sweetness for each product depending on the condition tested and contribution to the Product x Condition interaction.	117
Figure 23 : Réactivité des procyanidines oligomères et polymères vis-à-vis des protéines salivaires évaluées par la méthode Folin-Ciocalteu	126
Figure 24 : Astringence de fraction de procyanidines oligomères et polymères en solution aqueuse	126

Annexes

- I. SYMONEAUX, R. 2012. Les consommateurs face à la diversité sensorielle des cidres. *Pomme à Cidre*, 32, 6-9.
- II. Symoneaux, R., Baron, A., Marnet, N., Bauduin, R., & Chollet, S. (2014). Impact of apple procyanidins on sensory perception in model cider (part 1): Polymerisation degree and concentration. *LWT - Food Science and Technology*, 57(1), 22-27. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.11.016>
- III. Symoneaux, R., Chollet, S., Bauduin, R., Le Quéré, J. M., & Baron, A. (2014). Impact of apple procyanidins on sensory perception in model cider (part 2): Degree of polymerization and interactions with the matrix components. *LWT - Food Science and Technology*, 57(1), 28-34. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.01.007>
- IV. Symoneaux, R., Chollet, S., Patron, C., Bauduin, R., Le Quéré, J.-M., & Baron, A. (2015). Prediction of sensory characteristics of cider according to their biochemical composition: Use of a central composite design and external validation by cider professionals. *LWT - Food Science and Technology*, 61(1), 63-69. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.030>
- V. Guyot, S., Symoneaux, R., Le Quéré, J. M., & Bauduin, R. (2014). Les Polyphénols de la Pomme aux Cidres : diversité variétale et procédés, facteurs clé de la modulation des saveurs et des couleurs *Innovations Agronomiques*, 42, 105-123.
- VI. Symoneaux, R., Baron, A., Marnet, N., Bauduin, R., & Chollet, S. (2012). *Sensory impact of polymerisation degree and concentration of procyanidins in an apple cider model solution*. International Conference on Polyphenols, Firenze, Italy.

Le cidre, d'une logique de l'offre vers une démarche marketing de la demande

Résultats de l'étude sur la perception des cidres par les consommateurs

Présentation du projet : construction, partenariats

La Chambre régionale d'agriculture de Normandie a mené, entre 2008 et 2011, un projet ambitieux, construit avec de nombreux partenaires techniques et professionnels de la filière cidricole française, mais également avec des partenariats scientifiques extérieurs reconnus. Le but essentiel en était de mieux comprendre les préférences des consommateurs en matière de cidres, mais également de déterminer les leviers technologiques permettant de mieux piloter les caractéristiques des cidres, en liaison avec la demande.

Le choix des partenaires scientifiques associés au projet était déterminant pour assurer la qualité et la pertinence des futurs résultats. Les nombreux échanges menés au sein du comité de pilotage, réunissant ces partenaires scientifiques et techniques et les professionnels, a ainsi permis de déterminer les méthodologie et modes de restitution des résultats les plus adaptées possibles, que nous vous présentons ici.

Les partenaires scientifiques et techniques

- Ecole Supérieure d'Agriculture (ESA) d'Angers (Laboratoire GRAPPE) : l'équipe animée par Ronan SYMONEAUX fait partie de l'Unité Mixte de Technologie (UMR) VINITERA (ESA Angers, UVV INRA Angers, ITV Val de Loire, Cellule terroirs viticoles 49). L'un des objectifs de cette UMT est d'aider à la construction d'une segmentation des vins et à un meilleur positionnement sur le marché grâce à une meilleure prise en compte de l'attente des consommateurs et à une communication adaptée au produit. L'expérience acquise par l'ESA sur cette

thématique et son ambition de développer des compétences sur d'autres produits justifiaient pleinement son implication dans ce projet.

- L'ADRIA Normandie et l'Unité Mixte de Recherche (UMR) FLAVIC de l'INRA de Dijon étaient impliqués en 2007 dans le dépôt d'un projet de Réseau Mixte Technologique (RMT) "Evaluation sensorielle", porté par l'ITFF-Maisons du goût. Les actions de ce réseau sont particulièrement axées autour de la mise en place de programmes de recherche innovants sur le plan des méthodologies et l'exploration de domaines connexes à l'évaluation sensorielle, dans le but d'approfondir la connaissance des consommateurs et la compréhension de leur comportement. Leur expertise en la matière les rendait incontournables pour mener à bien notre projet. En retour, les missions de ces deux organismes dans le cadre du présent projet cidricole contribuent à alimenter les compétences du RMT "Evaluation sensorielle".

- L'Unité Mixte de Technologie cidricole (regroupant l'Institut Français des Productions Cidricoles et l'INRA-Unité de Recherche Cidricole au Rheu) a été créée en 2006. L'objectif des travaux qui y sont conduits est de développer des outils robustes permettant aux professionnels de choisir les technologies les plus à même de les conduire à la maîtrise de leur production.

Pour y parvenir, les grandes étapes de la recherche sont entre autres fixées sur l'étude du rôle des polyphénols dans les caractéristiques organoleptiques du produit, la maîtrise de la qualité des fermentations cidricoles par des levains mixtes,

l'identification des qualités du fruit pour la transformation afin de pouvoir construire la matière première en termes de variétés, maturités, techniques culturales, conditions de récolte...

Notre étude a ainsi intégré les résultats techniques et scientifiques acquis sur ces trois axes par cette UMT.

- L'ARAC (Association de Recherche Appliquée à la transformation Cidricole) a pour objet de mener, en partenariat étroit avec l'IFPC, des expérimentations sur des produits cidricoles. Son expérience et ses équipements technologiques ont été indispensables à la conduite de certaines modalités du volet technologique de l'étude.

- Le Laboratoire Frank Duncombe (Conseil Général du Calvados) possède des compétences analytiques pointues dans le domaine des produits cidricoles, acquises depuis de nombreuses années dans le cadre des programmes d'expérimentation menés par l'ARAC et l'IFPC. Il a apporté une aide précieuse pour l'indispensable caractérisation analytique des cidres de cette étude.

- Les techniciens de la filière cidricole (responsables qualité d'entreprises, conseillers cidricoles des Chambres d'agriculture de Normandie et des Côtes d'Armor, conseillers et animateurs du SPCFHN et du CIDREF) : leur connaissance précise des produits a été un élément central dans la sélection et la caractérisation des cidres, mais également pour le pilotage technique du projet et le retour des résultats vers la profession.

L'ambition et la qualité des partenaires de ce projet a nécessité une réelle implica-

tion de chacun de ses acteurs. Cette publication est une nouvelle occasion de les remercier pour tout le travail accompli et les apports qu'ils ont permis à la filière.

Contexte, objectifs

La consommation du cidre en France est étale depuis une vingtaine d'années, avec une tendance à une meilleure valorisation des produits : la part de marché des cidres dont le segment de prix est le plus élevé a presque doublé en cinq ans. Ces cidres haut de gamme sont essentiellement des produits sous Signe d'Identification de la Qualité et de l'Origine (SIQO) ou des cidres fermiers et artisanaux.

Le cidre étant une boisson fermentée fragile par nature (faible taux d'alcool, sucres résiduels, faible acidité, présence éventuelle de levures), les premiers efforts de la filière ont donc été portés principalement sur l'amélioration de la qualité et de la stabilité des produits. Les professionnels souhaitent aujourd'hui renforcer leurs efforts sur la lisibilité de l'offre cidricole et l'adaptation au marché permettant de séduire et fidéliser de nouveaux consommateurs. Dans un premier temps, le projet a donc eu pour ambition d'identifier les différences de perception de la qualité et de l'identité des cidres par les consommateurs, producteurs, transformateurs et techniciens et de comprendre comment se construit l'image du cidre chez ces différents acteurs, grâce à l'utilisation de méthodes innovantes de l'analyse sensorielle. Cette connaissance plus pertinente de la de-

mande permet aux professionnels d'affiner leurs futures stratégies d'élaboration des gammes ainsi que de communication et de promotion.

Aujourd'hui, la filière peut profiter collectivement de ces éléments essentiels pour mettre en place une offre toujours plus efficace.

Le projet a apporté, dans une seconde phase, les éléments techniques nécessaires à l'élaboration des caractéristiques jugées d'intérêt du point de vue des consommateurs. Il a abouti ainsi concrètement à la conception de fiches techniques. Il permet, de plus, d'apporter des éléments objectifs pour orienter les choix variétaux que les professionnels doivent faire dans un contexte de renouvellement important des vergers du grand ouest.

Il s'agit d'un projet à dimension nationale. L'adaptation de l'offre cidricole aux consommateurs doit permettre la multiplication de la diversité des occasions de consommation, véritable levier de développement de nouveaux débouchés pour une pérennisation de la filière.

Rendus et retombées

En amont de la présentation synthétique fournie dans cette publication, le projet a fait l'objet, en mars 2011, d'un colloque organisé à Caen. Cette journée de restitution et d'échanges a permis une première présentation des résultats sur les préférences et usages de consommateurs. Les présentations scientifiques, précises et étayées qui ont été proposées à cette occasion ont

ainsi validé des constats parfois déjà présents par la filière, mais ont également apporté des données nouvelles ouvrant des perspectives, notamment à destination des nouveaux consommateurs à conquérir.

Une présentation intermédiaire avait également eu lieu lors des entretiens cidricoles du SIVAL 2010.

Le volet technologique du projet a abouti à la conception de fiches techniques à destination des élaborateurs. Ces fiches, diffusées à toute la profession (et disponibles sur le site internet de la Chambre régionale d'agriculture de Normandie : <http://www.normandie.chambagri.fr/cidre-fiches.asp>) sont une compilation des leviers technologiques aujourd'hui à notre disposition pour moduler les différentes caractéristiques organoleptiques des cidres.

Enfin, des présentations ont été réalisées auprès de différentes associations régionales et il est prévu d'en faire dans les autres régions.

Cette publication a pour vocation de mettre à disposition de tous, de façon synthétique, claire et objective, les enseignements apportés par cette étude qui reste une première pour notre filière. Chacun pourra y puiser les informations nécessaires à une démarche de réflexion sur le positionnement de ses produits en réponse aux attentes des ses consommateurs actuels ou futurs.

ARNAUD DIDIER - CHAMBRE RÉGIONALE D'AGRICULTURE DE NORMANDIE
SERVICE VERGERS ET PRODUITS CIDRICOLLES

En résumé

Une progressivité dans la consommation des cidres et dans l'appréciation des différents types de cidres est observée. Si, globalement, on note un tropisme marqué vers le fruité, le sucré, certains consommateurs, notamment lorsque d'occasionnels ils deviennent plus réguliers, apprécient également les notes aromatiques plus évoluées. Cette réalité conduit à préconiser de faire découvrir le cidre aux nouveaux consommateurs en commençant par le cidre doux ou demi-sec avant d'aller vers les bruts. Les consommateurs perçoivent bien les différences sensorielles entre les différents cidres ; il faut les éduquer, les informer, pour éviter les déceptions lors de la consommation d'un produit qui pourrait s'avérer éloigné de ce que l'on en attend.

Lors des entretiens et enquêtes avec les consommateurs, il est apparu que le marché des cidres d'amateurs n'est pas à négliger dans les régions de production. Il faut donc veiller à ce que celui-ci ne ternisse pas l'image sensorielle du cidre en général.

Une cible plus jeune, faible consommatrice de cidre actuellement, est ressortie à plusieurs moments lors du projet. Ces consommateurs ont, semble-t-il, une perception et une attente différentes des autres consommateurs. Cette cible mériterait d'être précisée pour ensuite développer des actions spécifiques.

L'image du cidre reste un peu paradoxale. C'est, par ailleurs, un produit auquel le consommateur ne pense pas. Il faut pour

suivre l'effort de communication et l'animation des linéaires pour augmenter la présence à l'esprit, sans négliger de travailler un peu l'image pour la moderniser toujours pour conquérir de nouveaux consommateurs.

Enfin, la force, mais peut-être aussi la faiblesse, du cidre est d'être ancré dans des moments spécifiques de consommation. Ces moments privilégiés garantissent certainement au cidre un volume de vente, mais il faudrait également amener les consommateurs vers d'autres occasions, d'autres moments de consommation, d'autres associations mets / cidres, qui permettront d'élargir la consommation de cidre et potentiellement d'augmenter les ventes des divers types de cidres. RONAN SYMONEAUX

Les consommateurs face à la diversité sensorielle des cidres

Faire réagir les consommateurs face à la diversité sensorielle des cidres français et de quelques cidres étrangers était l'ambition du projet "Le cidre, d'une logique de l'offre vers une démarche marketing de la demande" menée par la Chambre régionale d'agriculture de Normandie, dans le cadre d'un appel à projets CASDAR.

Demander aux consommateurs d'apprécier des cidres variés permet de faire ressortir les caractéristiques sensorielles qu'ils aiment et celles qui sont moins recherchées. Cette démarche autorise la recherche des attentes différentes entre les consommateurs de segments particuliers. Elle peut donner des pistes d'orientation pour la conquête de nouveaux consommateurs et pour l'augmentation de la satisfaction des actuels consommateurs de cidre.

La cartographie des préférences pour identifier les déterminants sensoriels

La méthodologie mise en place dans ce cadre suit une procédure classique souvent utilisée en agro-alimentaire, mais également depuis plusieurs années dans le monde du vin. Celle-ci consiste tout d'abord à confronter une cible de consommateurs à un univers de produits défini, en lui demandant de ne se prononcer qu'en termes d'appréciation. Parallèlement, les différents produits sont décrits sensoriellement et objectivement par des dégustateurs entraînés à l'analyse sensorielle

et formés à cet exercice ; dans notre cas, on peut ainsi obtenir une description précise de chaque cidre. Il reste alors à mettre en relation les données de préférence avec les descriptions sensorielles de chaque produit pour identifier les caractéristiques sensorielles appréciées ou rejetées. En fonction de leurs avis, les consommateurs vont également être regroupés en sous-groupes ayant des appréciations similaires et des attentes spécifiques, ce qui permet ainsi d'affiner les résultats. Il est alors possible de croiser la composition de ces groupes avec leurs caractéristiques sociodémographiques, leurs fréquences de consommation, leur perception du cidre, etc. afin de préciser les segments ainsi obtenus.

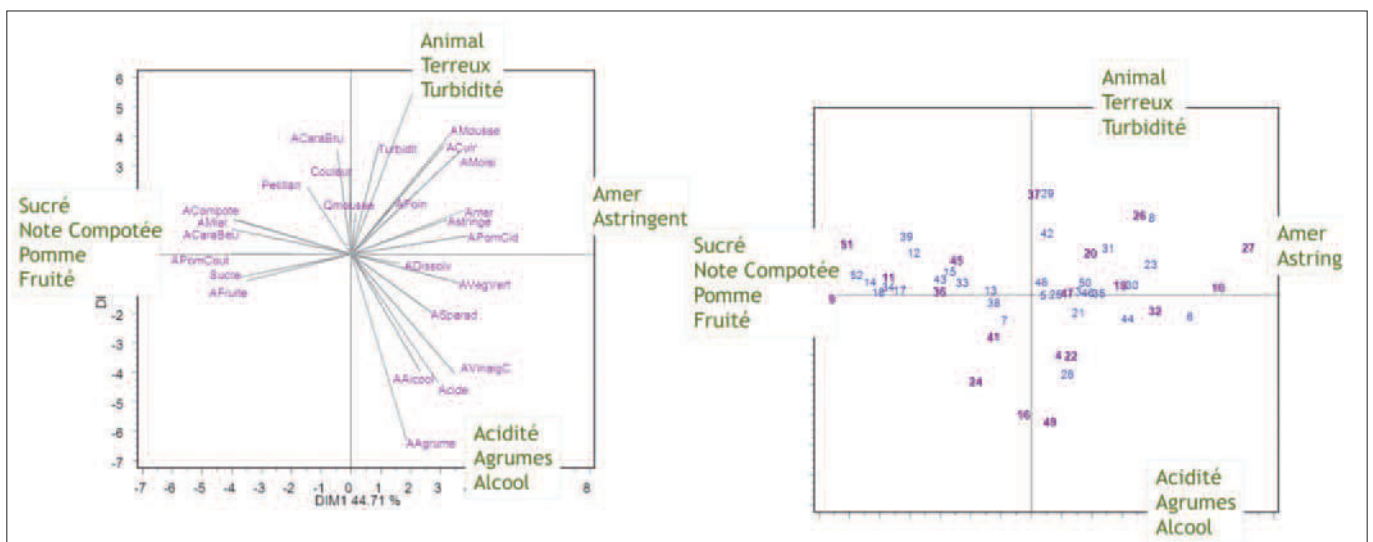
Le choix des 19 cidres dégustés et des 341 consommateurs interrogés

En amont de la mise en œuvre pratique de l'expérimentation, de nombreux points ont été discutés avec le comité de pilotage du projet pour en définir le périmètre, la cible des consommateurs interrogés et l'univers sensoriel exploré.

La vocation du projet étant de faire un état des lieux de la perception des cidres en

France, la définition de l'espace produit s'est rapidement orientée sur le souhait d'une représentativité large des cidres français, avec néanmoins l'intégration de 5 produits d'origine étrangère (cidres anglo-saxons, Apfelwein allemand). Le nombre de cidres dégustés par les consommateurs (en deux séances) a été fixé à 19 à partir de l'expérience des différentes équipes travaillant en analyse sensorielle. Pour arriver à cette sélection de 19 produits, une méthodologie impliquant plusieurs professionnels et conseillers cidricoles a été mise en place. Dans un premier temps, ceux-ci ont proposé plus de 80 produits offrant des caractéristiques sensorielles variées. Chaque cidre ayant été décrit par ces professionnels, une première sélection a été réalisée pour réduire cette liste à 52 produits. Ceux-ci ont alors été analysés par le panel entraîné de l'ADRIA Normandie suivant 47 attributs sensoriels (visuels, olfactifs, gustatifs, aromatiques...) permettant ainsi de caractériser chaque produit et de les regrouper en fonction de leur proximité sensorielle. Globalement, l'espace produit de ces 52 cidres (figure 1) oppose des produits sucrés avec des notes de compoté, des notes

Figure 1- Carte sensorielles des 52 cidres évalués par le panel entraîné



de pomme fraîche et de fruité à des produits plus amers et astringents. Certains produits font apparaître un caractère acide un peu plus marqué, avec présence de note d'agrumes et une sensation d'alcool plus forte. D'autres produits présentent des notes de cuir et des notes un peu terreuses. Chacun des cidres ainsi dégustés a pu être décrit précisément sur l'ensemble des caractéristiques sensorielles permettant d'identifier des grandes familles, mais également d'observer les nuances entre les produits. Cet exercice a ainsi permis la sélection des 19 produits finaux, tout en conservant des produits représentatifs de cette large diversité sensorielle. Au final 16 cidres français et 3 étrangers ont été sélectionnés pour être présentés aux consommateurs.

En complément de cette dégustation par le panel entraîné, les 52 cidres du départ ont également été dégustés par une vingtaine de professionnels de la filière ; les résultats de ces deux dégustations ont été rapprochés, montrant globalement un accord entre les deux groupes de dégustateurs sur les caractéristiques des cidres. Un autre point important, lors d'une étude sensorielle avec des consommateurs, est la définition de la cible de consommateurs interrogés. Dès la construction du projet, il avait été souligné l'intérêt de conquérir de nouvelles parts de marchés, de trouver de nouveaux consommateurs. Pour ce faire, le comité de pilotage a fait le choix de ne pas étudier prioritairement les consommateurs réguliers de cidre, mais d'interroger surtout des occasionnels (50 %) et des non-consommateurs (30 %). 341 consommateurs ont donc été recrutés, avec autant d'hommes que de femmes, tous adultes, mais avec une surreprésentation des plus jeunes (25 % de 18-25 ans, 30 % de 26-40 ans) et, enfin, des consommateurs provenant des bassins de production (Normandie, Bretagne), mais également de Paris et de régions de faible consommation (Strasbourg, Lille, Avignon) (figure 2).

Les conditions de dégustation

La réalisation d'un test consommateurs comme celui de cette étude nécessite également une réflexion importante quant au protocole et aux conditions de dégustation. Même si d'autres approches sont envisageables (à la maison, dans un magasin...), la dégustation en cabine normalisée a été choisie pour harmoniser les conditions de dégustation, car l'évaluation de 19 cidres entraîne de nombreuses

Figure 2 - Les six villes retenues pour le test consommateurs



contraintes si l'on opte pour d'autres types de dégustation.

Les consommateurs étaient conviés à une dégustation de cidres, sans aucune autre précision. Ils venaient ainsi deux fois pour déguster ces 19 cidres, qui étaient répartis entre les consommateurs selon un ordre spécifique afin de limiter les effets d'ordre et de report. Chaque cidre (présenté dans une bouteille masquée) était servi à 12 ° +/- 2 ° C, dans des verres ballons, devant les dégustateurs pour qu'ils puissent intégrer la perception de la mousse et des bulles au service. Ils devaient, pour chacun des cidres (servis les uns après les autres), donner une note d'appréciation de 0 (je n'aime pas du tout) à 10 (j'aime énormément), puis ils pouvaient librement indiquer par écrit ce qu'ils avaient aimé ou pas aimé dans le cidre dégusté.

Ces conditions de dégustation sont couramment utilisées en analyse sensorielle. Les trois équipes spécialisées sur les thématiques d'analyse sensorielle (Adria Normandie, CSGA, ESA-GRAPPE) utilisent ces méthodes régulièrement et participent

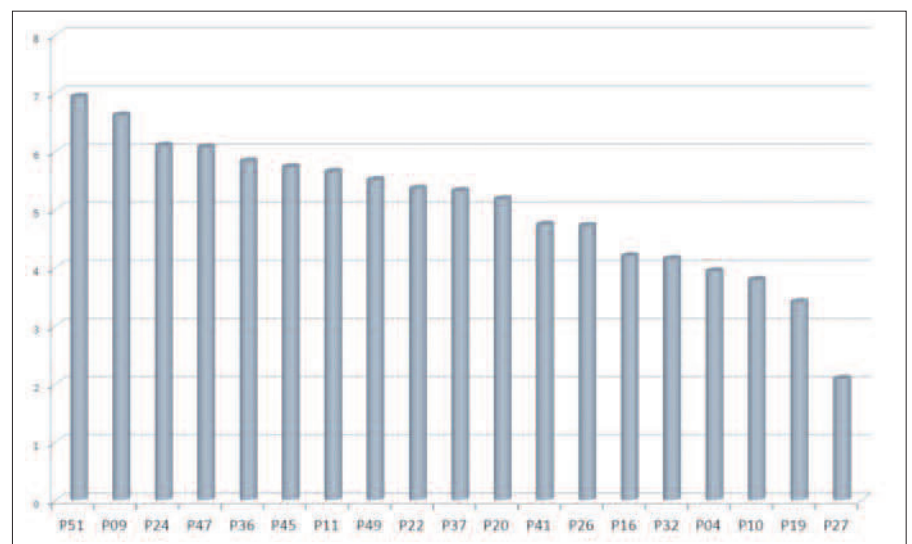
d'ailleurs à des travaux scientifiques sur les développements méthodologiques en lien avec ces techniques. Au cours de ce projet sur le cidre, il a été fait appel également à plusieurs laboratoires d'analyses sensorielles (issues des Maisons du Goût, PEIFL Avignon, ISA Lille) réalisant quotidiennement des études sensorielles avec des consommateurs.

Ces tests hédoniques permettent de tester la performance des produits et d'identifier les caractéristiques sensorielles appréciées. Une dégustation en contexte de repas (crêpes, galette, autres) aurait également pu être testée, mais très difficilement avec autant de produits. En analyse sensorielle, les dégustations sont généralement réalisées hors contexte de repas comme dans ce projet. Elles permettent de tester la performance intrinsèque des produits sans l'interaction avec les mets associés. Dans une première approche, le choix du comité de pilotage s'est donc porté sur cette méthodologie.

De très fortes différences d'appréciation entre les 19 cidres

Le premier niveau d'analyse, lorsque l'on étudie l'avis de 341 consommateurs face à des produits, est de calculer la note moyenne pour chaque produit (figure 3). Cette note calculée sur l'ensemble des dégustateurs traduit le niveau global de satisfaction pour chaque produit, mais sans tenir compte des divergences d'opinion entre les consommateurs. Avec un produit ayant une note moyenne proche de 2 et d'autres avec des notes moyennes supérieures à 6, il apparaît que les cidres ont vraiment été appréciés de manières très différentes. Ainsi, certains ont visiblement

Figure 3 - Notes moyennes des 341 consommateurs pour les 19 cidres



été appréciés et d'autres rejetés par un grand nombre de consommateurs. Une telle dispersion des notes moyennes indique que certaines caractéristiques ont été appréciées par beaucoup (cidre P51) et d'autres (cidre P27) ont été visiblement mal ressenties par une majorité de consommateurs.

La cartographie des préférences est une technique qui permet de représenter la diversité des avis des consommateurs et les caractéristiques sensorielles qu'ils ont appréciées ou pas. Sur la figure 4, chaque trait gris représente la direction d'appréciation d'un consommateur ; plus il y a de traits dans une direction, plus les produits dans cette direction ont été appréciés par un grand nombre de consommateurs ; à l'inverse, les produits vers lesquels peu de traits se dirigent sont peu estimés. La forte concentration de traits sur la partie droite du graphique témoigne d'un consensus élevé pour une meilleure appréciation des caractéristiques *sucre*, note *comptée*, *pomme* et *fruité*, comme l'indiquent les attributs sensoriels reportés en violet sur le graphique. Par exemple, le produit P51 (qui est le plus apprécié tous dégustateurs confondus) a été évalué par le panel entraîné avec attaque *sucrée* accompagnée d'un arôme *pomme à couteau*, relayée par le *fruité* avec une finale à nouveau *sucrée*. A l'opposé, l'absence de trait dans la partie gauche du graphique indique une moindre appréciation quand les produits sont plus *amers* ou *astringents*. C'est d'ailleurs le principal critère qui caractérise le produit le moins apprécié (P27), qui présente une attaque et une nette dominance *amères* avec des arômes *moisi* et *animal* en fin de bouche.

Cependant, si on note que les consommateurs se répartissent majoritairement sur la moitié droite de la figure, on remarque certains traits qui se dirigent vers

Figure 4 - Cartographie interne des préférences avec projection des variables sensorielles

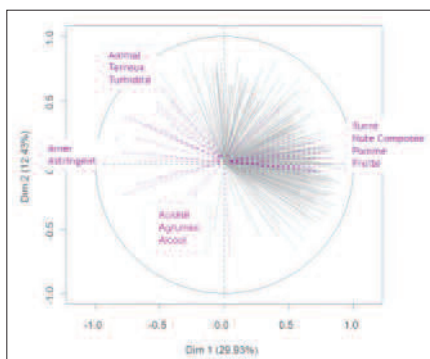
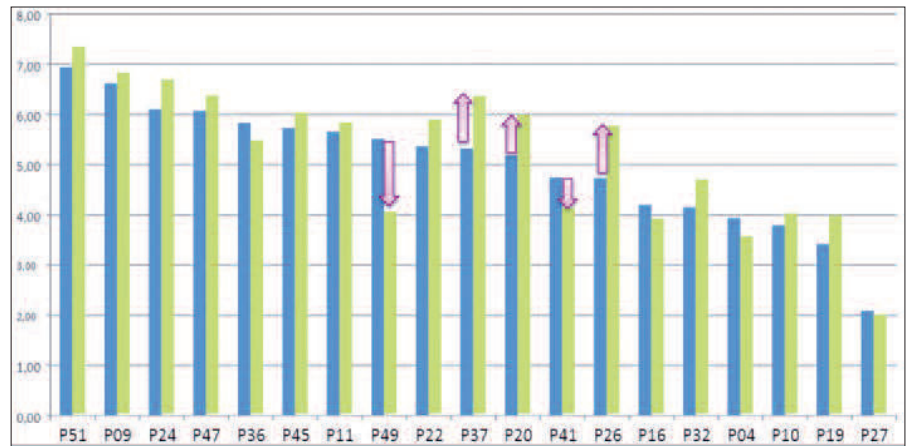


Figure 5 - Notes moyennes du groupe au comportement "moyen" en vert et de tous les consommateurs en bleu. Les flèches précisent les produits perçus différemment entre les deux groupes



le haut de la figure ; ceci indique une certaine diversité dans les opinions, et donc que tous les consommateurs n'ont pas apprécié les mêmes cidres de manière équivalente. Cela justifie donc une analyse par sous-groupe de consommateurs.

Trois groupes de consommateurs aux appréciations différentes

Les outils statistiques utilisés permettent de regrouper des consommateurs ayant des avis assez proches sur les cidres dégustés. Cette analyse a permis d'identifier trois sous-groupes de consommateurs. Chaque groupe se distingue de la moyenne générale par une meilleure appréciation de certains cidres et une moins bonne d'autres produits. Une fois ces cidres identifiés, il est possible de faire le lien avec les résultats des profils sensoriels réalisés par le panel entraîné et ainsi expliquer les motivations des consommateurs. Il est également possible de croiser chaque groupe avec les réponses individuelles aux questions posées dans les questionnaires sociodémographiques et usages et attitudes pour essayer de caractériser chacune de ces cibles.

Un groupe proche du comportement moyen (n=105)

Quand les notes moyennes des consommateurs de ce groupe sont confrontées à celles des notes moyennes sur l'ensemble des 341 consommateurs (figure 5), on constate que ce sous-groupe a un comportement proche de la moyenne. Ces consommateurs ont mieux apprécié les produits plus *sucrés* avec des notes *comptées*, *fruitées*. Ils ont peu aimé les produits plus *secs* et *amers*. Ils aiment moins que les autres dégustateurs les produits avec des notes *d'autres fruits* (caractéris-

tique qui n'a pas été plus précisée lors de l'évaluation sensorielle mais qui est présente dans les produits P49 et P41).

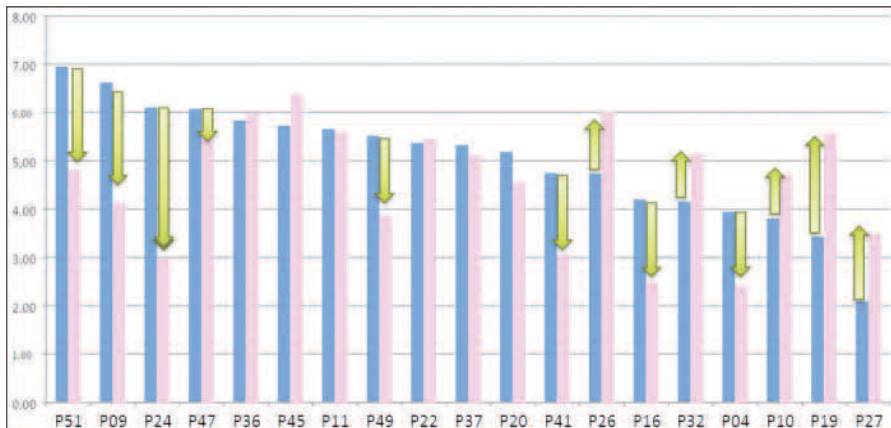
Par ailleurs, la mousse peut être un critère valorisant pour ces consommateurs ; en effet les produits avec une mousse assez présente et un pétillant plus marqué ont été un peu mieux notés, notamment le produit 26.

Ce sous-groupe de consommateurs ne présente pas de caractéristique propre du point de vue sociodémographique. Les consommateurs qui le composent sont très variés, venant des différentes villes étudiées, en région de production ou non, avec différentes fréquences de consommation, catégories d'âges ou de sexe.

Les connaisseurs, les consommateurs plus fréquents des bassins de production

L'analyse des notes d'appréciation (figure 6) fait apparaître un groupe de consommateurs qui rejettent les cidres les plus *sucrés* avec des notes *comptées*, *caramel au lait*. Pour ces consommateurs, les produits dans un équilibre *sucré / amer / astringent* sont mieux valorisés. Cependant, le produit le plus *amer* et *sec* reste moyennement apprécié. Pour ce groupe, l'effervescence des produits semble à nouveau importante. Par contre, le caractère *trouble* ou *limpide* ne semble pas un critère majeur pour ces consommateurs qui apprécient indifféremment des produits des deux catégories. Il est également notable que ces consommateurs apprécient moins que les autres les produits P4, P16 et P41, qui sont tous les trois des produits étrangers. Il en est de même du P49, un produit plus *clair*, plus *acidulé* que les autres cidres. Ils ont visiblement moins bien apprécié les cidres sortant de l'ordinaire.

Figure 6 - Notes moyennes du groupe des "connaisseurs" en rose et de tous les consommateurs en bleu

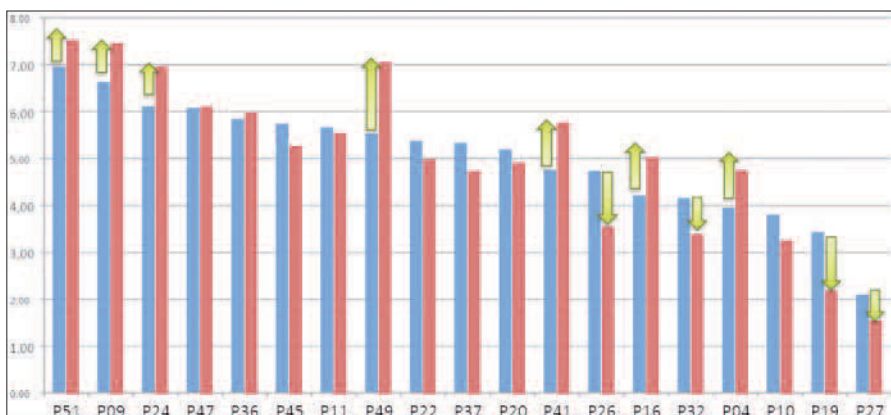


Enfin, ce sous-groupe présente une surreprésentation des consommateurs un peu plus âgés, issus des catégories "traditionnel" et "habitués"; originaires de Bretagne et Normandie, avec une consommation plus importante.

Les nouveaux consommateurs, occasionnels (n=169)

Enfin, un dernier sous-groupe montre une plus grande satisfaction que la moyenne pour les produits *sucrés* et une moindre appréciation des produits *secs* (figure 7). Les consommateurs de ce sous-groupe se distinguent des autres consommateurs par l'évaluation plus positive des produits type cidres ou Apple Frost. Ils apprécient les caractéristiques *fruité, sucré, acidulé et alcooléux*. Ils aiment également les couleurs sortant de l'ordinaire, appréciant à la fois le cidre très *pâle* et le cidre *rosé*. Ce sous-groupe sanctionne l'*amertume*, l'absence de *fruité*, l'*excès d'effervescence* et le *trouble*. En proportion, ce sous-groupe comporte plus de "- de 25ans" et moins de "+ de 55 ans" que les deux autres sous-groupes. Il compte une proportion importante de consommateurs occasionnels et de consommateurs d'Avignon. Il apparaît

Figure 7 - Notes moyennes du groupe des nouveaux consommateurs et occasionnels en rouge et de tous les consommateurs en bleu



donc que c'est une cible de "nouveaux consommateurs".

Conclusion

Au terme de cette étude, il apparaît une tendance dans le type de cidre que les consommateurs apprécient, en fonction de leur connaissance du produit et de leur fréquence de consommation. Cela conduit le nouveau consommateur à préférer des produits plus *fruités* et *sucrés*. Il vaut mieux donc favoriser un premier contact avec le cidre par des produits *doux, demi-sec* avec des notes *fruitées, compotées*. La conquête de nouveaux consommateurs ou la fidélisation de consommateurs occasionnels sera plus efficace avec ce type de cidre. Par l'habitude, par une consommation plus importante, il apparaît que l'appréciation des produits plus *bruts* et présentant des notes aromatiques *moins fruitées*, allant éventuellement vers des *notes de cuirs, d'évolution* augmente. La cible des consommateurs "traditionnels" revendique une moindre appréciation des produits très *sucrés*; mais, comme les autres consommateurs, ils rejettent globalement les produits trop *secs* et très *amers*.

Finalement, les consommateurs ayant des

avis différents, il conviendrait de les informer un peu plus sur les différences et les caractéristiques propres à chaque cidre; cela permettrait à chacun de pouvoir déguster le cidre qu'il attend. Reste cependant à gérer le fait que certains consommateurs déclarent acheter préférentiellement du brut mais que dans les faits, ils préféreraient des produits plus sucrés. Ce paradoxe est présent et sera compliqué à contourner.

Les résultats de ce projet montrent également que, dans l'univers sensoriel des cidres, il existe des caractéristiques discriminantes. Ce sont des caractéristiques que certains valorisent ou recherchent, mais que d'autres détestent. Ainsi, les *cidres*, les cidres plus acidulés, les cidres très clairs, les couleurs différentes partagent fortement les consommateurs. De même, la mousse, l'effervescence ou encore le trouble sont facteurs de segmentation. L'un des objectifs du projet était de regarder le comportement des consommateurs plus jeunes, faibles voire non consommateurs. Il ressort qu'une partie des jeunes a une consommation et une perception un peu en marge des autres segments. Ce constat ouvre des perspectives pour tenter de préciser les attentes de cette cible et pour développer des actions spécifiques envers elle.

Enfin, parallèlement à la dégustation faite par les consommateurs, 101 professionnels de la filière ont également dégusté ces 19 cidres et donné leurs appréciations hédoniques. Il en ressort que l'appréciation des professionnels converge avec les consommateurs pour le rejet des produits très secs et amers. En revanche, il apparaît que les professionnels ont une meilleure appréciation des produits demi-secs proche de celles des consommateurs réguliers. Par contre, ils apprécient moins les produits sucrés et fruités ainsi que les produits "originaux" et les produits étrangers, s'éloignant ainsi des attentes des nouveaux consommateurs et de la cible plus jeunes.



Différents groupes de consommateurs aux usages différents

Le test consommateurs était également l'occasion d'interroger un grand nombre de consommateurs sur leur consommation du cidre et sur l'image qu'ils en ont. Les 341 consommateurs ont donc tous rempli un questionnaire sur la perception du cidre et sur son usage. Chaque question a ensuite été analysée séparément, puis nous avons recherché des typologies de consommateurs, des groupes avec des comportements et/ou des perceptions proches.

Un premier regroupement des consommateurs a été fait sur les questions relatives aux usages du cidre : fréquence de consommation, lieu et moment de consommation, lieux d'achat, types de cidre acheté. Cette analyse fait ressortir quatre typologies de consommateurs.

Les consommateurs "Basiques"

Ce sont des consommateurs qui boivent le cidre plus volontiers à l'occasion d'événements spéciaux ou encore avec les crêpes ou au dessert. Ils privilégient un cidre plutôt doux, de préférence "non fermier" et généralement jamais le même. Ils achètent tous en supermarché et très peu chez un producteur. Ce sont pour la plupart des consommateurs hors des régions de production, avec une faible fréquence de consommation.

Les consommateurs "Tradition"

Ces consommateurs boivent plutôt du cidre à l'occasion des repas, avec des plats au cidre, pour des soirées crêpes, mais rarement pour accompagner le dessert et peu en soirée. Ils apprécient les cidres bruts et recherchent volontiers des cidres fermiers. Ils n'achètent jamais en petit conditionnement. Ces consommateurs viennent des régions de production. Ils connaissent plus que les autres des producteurs "amateurs".

Les consommateurs "Plaisir"

Ces consommateurs déclarent plus que les autres consommer du cidre à l'occasion de moment de détente, à l'apéritif, lors des vacances, des soirées crêpes, des rassemblements amicaux et pendant la saison estivale. Tous les consommateurs

déclarant consommer du cidre dans les bars figurent dans cette catégorie. Ils aiment la nouveauté et leurs achats dépendent plus que les autres de leur envie du moment. Ce sont les seuls consommateurs qui se déclarent prêts à acheter en petit conditionnement. Ces consommateurs viennent proportionnellement plus de Paris et de l'est de la France.

Les consommateurs "Rebelles ou Festifs"

Ces consommateurs déclarent ne pas boire de cidre avec les crêpes. Ainsi, 22 des 27 consommateurs qui n'accompagnent pas leurs crêpes avec du cidre et 44 des 59 qui ne revendiquent pas les soirées crêpes comme occasion de boire du cidre font partie de ce groupe. Ils consomment plus souvent lors de rassemblements amicaux, chez des amis ou parents. Ce groupe est plus jeune que la moyenne. Ils achètent souvent le même cidre.

Des différences de perceptions entre les consommateurs

Le questionnaire distribué lors des tests hédoniques a également permis d'étudier à nouveau l'image du cidre vue par les consommateurs. Il apparaît que les consommateurs sont, dans l'ensemble, assez en accord sur la perception du cidre. Voici ce qui ressort de cet exercice.

Le cidre est un produit convivial qui peut se boire à toute saison. C'est une boisson festive, rafraîchissante. Fabriquée uniquement avec des pommes, c'est une boisson naturelle. C'est un produit fermier, artisanal, bon marché et intéressant car peu alcoolisé. Il passe bien en mangeant. Il n'est pas mauvais pour la santé et se digère convenablement. Il ne donne pas mal à la tête. Les

consommateurs ne le consommeraient pas facilement dans un bar et ne l'associent pas facilement avec tous les plats. Il n'est pas perçu comme un produit haut de gamme, sans pour autant être taxé de ringardise.

Afin de préciser les différents avis entre les consommateurs, une nouvelle segmentation a été réalisée pour identifier des nuances de perception entre eux. Trois classes de consommateurs ont été identifiées, qui se sont avérées être liées à la fréquence de consommation et à l'âge.

Les "habitués du cidre"

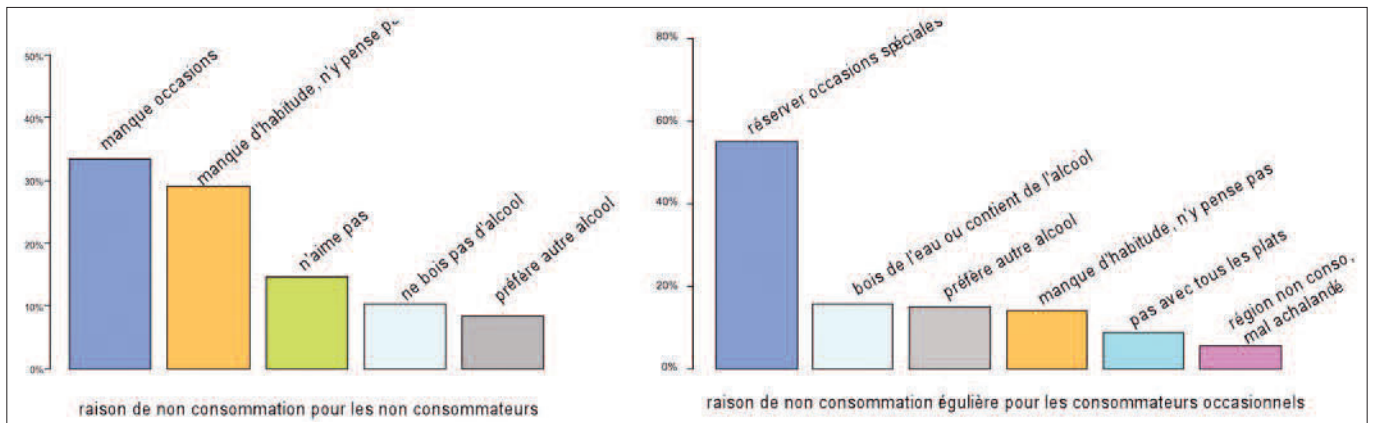
Ils ont une image plus positive que les autres du cidre. Une majorité des consommateurs de ce groupe déclare apprécier le « goût fermier » du produit, ne recherche pas le sucre et préfère le brut. Ils disent aimer le caractère artisanal et trouble de certains cidres. Pour eux, le cidre est une boisson naturelle à base de pommes, qui peut se boire avec tous les repas.

C'est un groupe plus âgé, avec un peu plus de consommateurs réguliers et dans tous les cas avec peu de non-consommateurs. Ils ont un très bon souvenir de leur première consommation de cidre. Ce sont des consommateurs plus expérimentés, plus connaisseurs. Ils déclarent acheter un peu plus aux producteurs, du brut, de marque connue. Ils sont moins indifférents au mode de fabrication et consomment plus avec des plats au cidre.

Des plus jeunes avec une appréciation spécifique

Ce deuxième groupe est un groupe plus jeune que la moyenne. Ses consommateurs considèrent que la boisson est adap-

Figure 1- Les raisons de la non consommation



tée aux jeunes car peu alcoolisée, que c'est une boisson peu adaptée aux repas, éventuellement aux crêpes, notamment car ça passe mal en mangeant. Ils se déclarent plus sensible au pétillant. C'est un groupe de non spécialistes : indifférents au mode de fabrication, ils n'achètent pas de marque connue et n'achètent pas au producteur.

Les consommateurs plus occasionnels

Le troisième groupe est plus neutre que les autres sur les aspects santé, convivialité ou image. Ces consommateurs disent qu'ils n'aiment pas les cidres au "goût fermier". Ils ont apparemment une image un peu moins positive que les autres. Pour eux, le cidre est un produit peu adapté pour les jeunes, peu adapté pour les repas. Ils ont la perception d'un produit moins naturel, moins artisanal ou fermier. Ils apprécient plus les critères doux et sucré. Ce groupe rassemble plus de non-consommateurs ayant un moins bon souvenir de la première expérience (plus neutre) que dans les autres groupes. Pour eux, le cidre est une boisson non typée, bon quand il est doux et sucré.

Les raisons de la non consommation

Lors de l'enquête, les personnes ont été interrogées sur la raison de leur non-consommation ou faible consommation de cidre. Il est intéressant de noter les différences de réponses entre les non-consommateurs et les consommateurs occasionnels (figure 1).

Dans les deux situations, il apparaît clairement que l'association du cidre avec les crêpes ou sa consommation à des moments spécifiques "festif, familiaux" est une explication pour la faible consommation. Pour les non-consommateurs, il semble

que l'exposition au produit ne soit pas suffisante et que ceux-ci ne pensent tout simplement pas à acheter ou à consommer du cidre.

91 % des consommateurs répondent par non à la question "seriez-vous prêts à consommer du cidre à tous les repas ?". Ils s'expliquent par la présence d'alcool (35 % d'entre eux), puis à nouveau par le fait qu'ils associent le cidre à certaines occasions spécifiques (25 %). Enfin, sont mis en avant la concurrence avec l'eau et le vin et le fait que les consommateurs n'associent pas le cidre avec tous les plats.

Il apparaît donc que le cidre souffre d'un déficit de notoriété, d'un manque de communication, qui font que les consommateurs ne pensent pas à lui. C'est un produit très (trop) régionalisé, avec un ancrage très fort à des plats ou à certaines occasions. Les consommateurs déclarent également souvent choisir la bière, le champagne et d'autres effervescents, le vin, voire l'eau. Ces boissons font ainsi une très forte concurrence aux cidres. Il faut également avoir conscience que certains consommateurs n'aiment pas le goût du cidre, ses bulles, son "goût fermier". Enfin, il faut noter que son degré d'alcool, plus faible que la majorité des autres boissons alcoolisées, peut également être source d'un autre paradoxe : pour certains, le plus faible niveau d'alcool est une force, pour d'autres consommateurs, il n'y en a pas assez !

En conclusion : les paradoxes du cidre

Il apparaît, à la fin de cette étude, que les consommateurs peuvent avoir une perception paradoxale et des comportements contrastés. Le cidre est à la fois trop alcoolisé pour certains, pas assez pour d'autres. Il évoque de nombreuses impressions po-

sitives, une image festive et conviviale, un produit de tradition mais en même temps peut être jugé démodé pour certains. Les consommateurs mentionnent les cidres fermiers comme étant un gage de qualité alors que certains l'évitent par peur des arômes "rustiques". C'est aussi un produit apprécié tantôt pour sa nature "fruitée, douce", tantôt pour son "caractère" et son côté "terroir".

RONAN SYMONEAUX, GROUPE ESA - UNITÉ DE RECHERCHE GRAPPE, ECOLE SUPÉRIEURE D'AGRICULTURE D'ANGERS

Les partenaires financiers

• Un projet d'une telle envergure n'aurait pas pu voir le jour sans un soutien financier important.

Nous tenons donc réitérer nos remerciements à :

- Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt (appel à projets Casdar) ;
- Région Basse-Normandie ;
- UNICID ;
- IDAC ;
- Conseil Général du Calvados.



Contents lists available at ScienceDirect

LWT - Food Science and Technology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/lwt

Impact of apple procyanidins on sensory perception in model cider (part 1): Polymerisation degree and concentration

R. Symoneaux^{a,*}, A. Baron^b, N. Marnet^b, R. Bauduin^c, S. Chollet^d^aLUNAM Université, Groupe ESA, UPSP GRAPPE, 55, rue Rabelais, BP30748, F-49007 Angers Cedex 01, France^bINRA, UR1268 BIA-Polyphenols, Reactivity, Processes, F-35650 Le Rheu, France^cIFPC, Domaine de la Motte, F-35 650 Le Rheu, France^dUniversité Catholique de Lille, Groupe ISA, 48 Boulevard Vauban, F-59046 Lille, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 25 January 2013

Received in revised form

6 November 2013

Accepted 12 November 2013

Keywords:

Bitterness

Astringency

Apple procyanidins

AverageDP

ABSTRACT

The impact of the degree of polymerization and of the concentration of procyanidins in a model solution of French cider was investigated. Four purified fractions of procyanidins at three concentrations were added in a solution containing water, ethanol, fructose and malic acid. The four studied sensory characteristics (bitterness, astringency, sweetness and sourness) were modified according to the concentration of procyanidins. The degree of polymerization (DP) of procyanidins influenced only bitterness and astringency but this impact was not the same for all concentrations. Despite the fact that pH, fructose and malic acid concentrations were the same in all samples, the perception of sweetness and sourness were modified according to the concentration of procyanidins.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

French cider is a slightly alcoholic and sweet drink obtained by slow and partial fermentation of the juice of specific apple varieties. Its main constituents are water, sugar (mainly fructose), organic acids, phenolic compounds and volatiles (Lea & Drilleau, 2003). Given this composition, bitterness and astringency have been important attributes to define French cider quality for a long time (Boutteville & Hauchecorne, 1875; Brugirard & Tavernier, 1952; Le Paulmier de Grantemesnil, 1589). In French ciders, apples used are well known for their high polyphenolic content being these compounds the main responsible for the two aforementioned sensory characteristics. In addition, processes (fermentation, fining...) modulate the composition of polyphenols compounds in cider impacting both on the global concentration and on the polyphenol profile (Guyot, Marnet, Sanoner, & Drilleau, 2003).

Procyanidins (or tannins) have been intensively described (Brossaud, Cheynier, & Noble, 2001; Lea & Arnold, 1978; Noble, 1994; Peleg, Gacon, Schlich, & Noble, 1999) as the polyphenols responsible both for astringency and bitterness in wine and cider. The main differences between the phenolic compounds in wines and ciders are the chain length and the nature of the constituent monomers of tannins. Generally, they are less polymerized in cider.

The average degree of polymerization (aDP) of the procyanidins in a selection of 90 ciders was found to be between 1.61 and 3.69 (Le Quéré, Husson, Renard, & Primault, 2006), demonstrating that procyanidins in cider are smaller and in a shorter range than those of wine where aDP could range from 1.8 to 13 (Chira, Pacella, Jourdes, & Teissedre, 2011; Kassara & Kennedy, 2011; Monagas, Gómez-Cordovés, Bartolomé, Laureano, & Ricardo da Silva, 2003). These difference could be given by the fact that apple procyanidins are polymers of epicatechin with a few catechin as terminal units (Sanoner, Guyot, Marnet, Molle, & Drilleau, 1999) whereas procyanidins from grape contain these monomers but some residues are galloylated from 13 to 29% (Ricardo-da-Silva, Bourzeix, Cheynier, & Moutounet, 1991).

In wine, numerous works (Brossaud et al., 2001; Gawel, 1998; Haslam, 1980; Kallithraka, Bakker, & Clifford, 1997; Maury, Sarni-Manchado, Lefebvre, Cheynier, & Moutounet, 2001; Peleg et al., 1999; Vidal et al., 2004, 2003) present the impact of procyanidins concentration or composition on the two mentioned mouth sensations using wine model solutions or wines added with chemical monomers or polyphenol extracts from wines, grape seeds, or grape skin fractions. They showed that the higher the tannins concentration, the more bitter and astringent wines were. In addition, it was revealed that aDP has an impact on bitterness and astringency of wine: the higher the aDP, the more astringent the wine. On the contrary, it was shown (Peleg et al., 1999) that purified monomers of epicatechin and catechin were bitterer than their purified dimer and

DOI of original article: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.01.007>.

* Corresponding author. Tel.: +33 2 41 23 55 55; fax: +33 2 41 23 55 00.

E-mail address: r.symoneaux@groupe-esa.com (R. Symoneaux).

trimer without taking into account higher polymerization degree. These results were mainly obtained in a wine model solution with alcohol content (from 11% vol. to 15%) close to those of wine's concentration. These results should not be generalized and applied to a product as cider with low alcoholic concentration since ethanol can interfere with astringency and bitterness.

It is to be noted that research reference on polyphenols in cider are scarce. [Lea and Arnold \(1978\)](#) worked on sensory perception of phenolics in cider finding that bitterness was associated with low aDP and they also observed that tetrameric flavan-3-ol was bitterer than others. The same authors found that astringency was well linked with polymeric procyanidins and increased with aDP. However they were not able to conclude if it was a bias due to the concentration of procyanidins since tasted ciders with higher aDP contained more procyanidins. Moreover, the separate influence of procyanidins composition and of their concentration on bitterness and astringency was not evaluated. Finally, no references could be found concerning the impact of procyanidins on the perceived sweetness and sourness of ciders in ciders.

The aim of the present work was to analyse the influence of the concentration and of the polymerization degree of purified apples procyanidins extract with controlled degree of polymerization in a cider-like model solution on four sensory characteristics: astringency, bitterness, sourness and sweetness.

2. Materials and methods

2.1. Obtention of purified polyphenols

All procyanidins extracts used in this project had to be food grade quality in order to be tasted by consumers. For this reason, the procedure developed for preparing purified polyphenols was selected using solvents allowed in *Codex Alimentarius* and by the European law ([Pöttering & Necas, 2009](#)).

Fifty kilograms of Binet Rouge cultivars apples were peeled and cut in small slices and placed in a 2% formic acid bath to reduce polyphenoloxidase activity. Apple slices were then drained, stored at -25°C . They were then freeze-dried and were afterwards transformed into a fine powder used for polyphenol extraction. This process was done in two stages: 1) solvent extraction and 2) purification by liquid chromatography in order to separate oligomers with different polymerization degrees.

- 1) For the solvent extraction 300 g apple powder was first mixed with 1.5 L of hexane to extract carotenoids. The obtained suspension was filtered and hexane was removed. The residual was mixed three times with 1.5 L of ethanol acidified with 0.5% acetic acid. Each time, the residual was recovered and organic phases were collected. Then three extractions from the residual with 1.5 L of acidified water (2.5% of acetic acid) and acetone (60/40 vol/vol) led to a fraction with a high amount of procyanidins oligomers. This fraction was concentrated under vacuum and then frozen at -20°C .
- 2) To purify this acetonic fraction, a reverse-phase C18 preparative column (Colonne prep C18 dimension 200 mm \times 50 mm diameter; phase: Lichrospher RP-18 (12 μM) Merk, Darmstadt, Germany) was used with a 40 mL/min flow. Adsorption on the inverse phase was done with acidified water (2.5% acetic acid) followed by a 20 min rinse at 40 mL/min with the same phase. Desorption was carried out by a 50% Ethanol/50% Water acetic acid 2.5%. Eluted components were collected, mixed, concentrated and freeze dried.

The purification of oligomers was done using a Diol preparative normal-phase column ([Kelm, Johnson, Robbins, Hammerstone, &](#)

[Schmitz, 2006](#)). The flow was fixed at 40 mL/min and a gradient of two solvents was used: ethyl acetate with 2% acetic acid (A) and ethanol 95%, water 3% and acetic acid 2% (B). The gradient was 0 min 20% B, 110 min 60% B, 125 min 90% B, 130 min 90% B, 140 min 20% A, 160 min 20% A. Detection was provided by a fluorimeter (λ_{ex} 276 nm λ_{em} 350 nm 0–65 min, λ_{em} 316 nm 65–140 min). With this conditions and detection, eleven chromatographic peaks were clearly observed corresponding to the different oligomers from 2 to 12. Once identified, each purified fraction was collected separately, concentrated under reduced pressure at 30°C to remove the volatile eluents and freeze-dried. The fractions of polymerization degree selected for this experiment were: 3, 5, 7 (named F_DP3, F_DP5 and F_DP7) and a mix of 10, 11 and 12 since they were more difficult to separate (named F_DP11).

2.2. Quality evaluation of obtained purified fractions

Each procyanidin fraction was analyzed in terms of polyphenol content and aDP. The first was done by the HPLC method described by [Guyot, Marnet, Sanoner, and Drilleau \(1998\)](#) and the second was estimated by phloroglucinolise ([Kennedy & Jones, 2001](#)).

Also, to check the dispersion by mass of the procyanidins, the lyophilized fractions (approximately 4 mg) were dissolved in 1 mL of acetonitrile 98%, acetic acid 2% and they were analyzed by HPLC according to [Kelm et al. \(2006\)](#). Chromatograms observed at 280 nm were integrated and quantification was possible thanks to previously obtained calibration curves from high purified procyanidin dimer B2, the most abundant isomer in apple.

2.3. Cider model solution and experimental design

To evaluate the sensory impact of the degree of polymerization and concentration of procyanidins a cider model solution done with a water solution of ethanol, fructose and malic acid (being these the main sugar and acid in cider). The concentrations were selected aiming to obtain a low sweetness, low sourness and low alcohol model solution of cider. A large database on cider composition (90 ciders) was used as reference ([Le Quéré et al., 2006](#)) to define each component concentration. The obtained model solution composition was 1.76%Vol of ethanol, 8.3 g/L of fructose and 1.52 g/L of malic acid. The highest pH in this database was 4.12, so KOH was used as a buffer to obtain this pH since potassium is an important mineral component in cider.

In the mentioned database ([Le Quéré et al., 2006](#)), the maximum content of procyanidins was 1434 mg/L, nevertheless only few ciders presented such amount of procyanidins. Therefore, a maximum concentration of 750 mg/L was selected for the present experiment being this the maximum procyanidin concentration after removing the 10% ciders with highest values.

Three different concentrations of the four purified fractions of procyanidins called F_DP3, F_DP5, F_DP7 and F_DP11 were tested at three concentration levels 250, 500 and 750 mg/L. A complete factorial design was established to analyse the impact of aDP and concentration on the sensory perception. The model solution without procyanidins was also tasted. In total 13 samples were tested.

2.4. Sensory evaluation by a trained panel

2.4.1. Panel composition and training

Sensory panel included 15 paid assessors from Ecole Supérieure d'Agriculture (4 males-11 females aged from 19 to 67 years old). Panelists were informed about the products (purified procyanidins in model solution) they had to evaluate and they have given an

informed consent. They were trained on sourness, sweetness, bitter taste and astringency attributes.

Panelists received a 21 h training (14 individual and group 1H30 sessions) on the sensory characterization of polyphenols in water and in the model solution. First, they familiarized themselves with the three studied tastes and astringency using recognition test and ranking test using caffeine, potassium alum, fructose, malic acid and a commercial apple polyphenol powder (PA 230 Val de Vire BioActives, France containing 38% of procyanidins used up to a maximum concentration of 2 g/L to have finally a maximum concentration of 750 mg/L of procyanidins in the samples used for training) in water at several concentrations. Then, after assuring that assessors did not confuse between the different sensory characteristics, alcohol was introduced in the matrix and they worked on scaling tasks using a continuous non-structured scale from low intensity to high intensity. References were proposed for each attributes (Table 1).

Before the final evaluation, a performance tasting was organized using the model solution added with the commercial polyphenol extract (PA 230 Val de Vire BioActives, France) used during all training steps at different concentrations and fructose, caffeine or malic acid. Despite a judge effect meaning that tasters did not use the scale in the same way, panel was discriminant, repeatable and in agreement for each attributes (data not shown).

2.4.2. Tasting conditions and samples presentation

Tasting took place in individual computerized booths according to NF ISO 8589 norms, in a sensory room at 21 °C +/1 °C under red light. Rinsing between samples was done with mineral water and with low salt biscuit. The 13 samples were presented in a sequential monadic way and their order based on a William Latin-square arrangement. Scores were collected by FIZZ (version 2.10; Biosystems, Courtenon, France).

2.5. Data analysis

Three ways variance analysis was used to analyse data for each attribute. The model used was: Attribute ~ Concentration + DP + Concentration × DP + Judge + Residual. When ANOVA was significant, the mean intensities were then compared by SNK multiple comparison test. All analyses were done using Statgraphics Centurion XVI (Version 16.1.18, Warrenton, USA).

3. Results

3.1. Quality of purified fractions

Table 2 shows that purified fractions of procyanidins contained from 70 to 94% of procyanidins. In all samples, the quantity of monomeric and dimeric procyanidins is negligible. The fraction of DP3 (F_DP3) had 90% of procyanidins in which 87% were DP3 procyanidins and no procyanidins with DP over 6 and presented an aDP of 3.1. The fraction F_DP5 had 67% DP5 and 12% DP4 with an aDP of 5.1. The F_DP7 contained around 85% procyanidins with 68%

Table 1
References used during training.

Low sweetness	Model solution + 2 g/L PA 230
Low sourness	Model solution
Low bitterness	Model solution
Low astringency	Model solution
High sweetness	Model solution + 2 g/L fructose
High sourness	Model solution + 0.5 g/L malic acid
High bitterness	Model solution + 2 g/L PA 230
High astringency	Model solution + 2 g/L PA 230

Table 2
Composition of purified procyanidin fractions.

	F_DP3	F_DP5	F_DP7	F_DP11
mg of procyanidins/100 mg of purified procyanidin fractions	90.01	93.77	84.68	70.03
mg of each DP/100 mg Procyanidins				
DP1	–	–	0.72	0.74
DP2	5.46	1.59	0.57	1.17
DP3	86.81	2.65	0.64	1.01
DP4	5.18	11.55	0.96	1.02
DP5	2.54	67.06	2.60	1.56
DP6	–	6.89	18.24	1.10
DP7	–	5.20	68.29	1.61
DP8	–	5.06	6.50	3.28
DP9	–	–	1.28	9.46
DP10	–	–	–	27.10
DP11	–	–	0.27	39.25
DP12	–	–	–	12.69
Calculated aDP of each fraction	3.20	5.10	6.90	11.10

DP: Degree of polymerization.

aDP: Average degree of polymerization.

F_DP3, F_DP5, F_DP7 and F_DP11 are the name of the four purified fractions (F_) with a number corresponding to the aDP.

DP7 and 18% DP 6. Finally, the HPLC analysis showed that F_DP11 was less pure with around 70% of procyanidins but the content was composed by higher DP with a total of 79% for DP 10 to 12.

3.2. Impact of polymerization degree and concentration on perception

Table 3 shows, globally, a huge impact of procyanidins' concentration on each taste ($p < 0.004$). The DP factor was also significant for astringency ($p = 0.0118$). Interaction between DP and concentration was observed for astringency ($p < 0.0001$) and a non-significant but a tendency interaction for bitterness ($p = 0.1057$).

3.2.1. Bitterness

ANOVA results on sensory data (Table 3 and Fig. 1) show that concentration of procyanidins had a positive significant impact on perceived bitterness. The higher the polyphenols concentration, the more bitter the solutions. Nevertheless, samples with 250 mg/L of purified polyphenols were not different from the model solution without procyanidins and even if those with 500 mg/L were bitterer, only products with 750 mg/L are significantly different from the model solution.

The effect of the DP factor on bitterness was not significant ($p = 0.3774$). Any purified fraction was significantly bitterer for all concentrations. Nevertheless, p -value for the interaction between DP and concentration was 0.1057. Thus, the bitterness was slightly modified by the DP. A closer look to the evolution of this taste for each DP with the same concentration allows explaining this result. For concentrations 250 mg/L and 500 mg/L, the bitterness is similar between each DP whereas for the concentration 750 mg/L F_DP5 is significantly bitterer than fraction F_DP3 and the F_DP11. F_DP7 at 750 mg/L is intermediate in bitterness (Fig. 1).

3.2.2. Astringency

Concentration and DP factors were significant (respectively $p = 0.0007$ and $p = 0.0118$, Table 3 and Fig. 2) with an interaction between both also significant ($p < 0.0001$). For each DP value, the perceived astringency increased as the concentration increased. Also, for a same concentration, as the DP value increased, the perceived astringency also increased. However, the p -value of concentration showed that it was more influent on astringency perception than the DP and the impact of concentration was more

Table 3
Impact of Degree of Polymerization (DP) and concentration on perception.

	P value				Average per concentration of fraction				Average per fraction			
	Concentration	DP	DP*Conc.	Judge	0	250 mg/L	500 mg/L	750 mg/L	F_DP3	F_DP5	F_DP7	F_DP11
Bitterness	0.0003	0.3774	0.1057	<0.0001	0.95 a	1.09 a	1.73 a	3.25 b	1.52 -	2.04 -	1.92 -	1.55 -
Astringency	0.0007	0.0118	<0.0001	<0.0001	0.63 a	2.73 b	3.96 bc	5.13 c	1.48 a	2.83 ab	3.74 bc	4.39 c
Sweetness	0.0034	0.1751	0.8807	<0.0001	4.21 c	3.98 bc	3.52 ab	2.97 a	3.89 -	3.40 -	3.51 -	3.89 -
Sourness	0.0025	0.3070	0.8901	<0.0001	2.26 a	2.83 b	3.03 bc	3.53 c	2.84 -	3.17 -	2.73 -	2.91 -

Presented values are:

• ANOVA *p*-values for factors and interaction.

• Mean values per concentration and per DP fraction. Different lower case letters represent significant differences ($p < 0.05$) among samples averages according to Student Neuman-Keuls (SNK).

important for higher DP values. The differences in astringency between the three concentrations of F_DP3 were small while for F_DP11 the differences between the low and high concentration was larger.

3.2.3. Sweetness

Although sugar composition was the same in all samples, the perceived sweetness changed according to procyanidins concentration ($p = 0.0034$, Table 3 and Fig. 3). Products with higher concentrations of procyanidins (500 and 750 mg/L) were less sweet than the control solution without polyphenols and the solutions with 250 mg/L of procyanidins concentration were significantly sweeter than the sample with 750 mg/L. The DP had no impact on the sweetness perception ($p = 0.1751$).

3.2.4. Sourness

Finally, Fig. 4 shows, as for sweetness, an effect of the concentration ($p = 0.0025$) on the sourness despite the fact that acid content and pH were the same in all samples (Table 3). Control solution and the 250 mg/L samples were less sour than samples with 750 mg/L of procyanidins fractions. The DP had no impact on the sourness evaluation ($p = 0.3070$).

4. Discussion

The quality of the food grade extract was a critical point in this experiment since high concentration of procyanidins with specific polymerization degrees were expected in each fraction. The use of

specific solvents (hexan, ethanol, ethyl acetate) to obtain fractions with a food grade had consequences on the quality of the final extract composition. Indeed, with traditional solvents as methanol (Shoji, Masumoto, Moriichi, Kanda, & Ohtake, 2006) a better purity should have been observed. Nevertheless with more than 70% of procyanidins in each samples and a large majority of the expected DP, this procedure was pertinent to have food grade procyanidins and allowed a precise study of the impact of procyanidins concentration and aDP on bitterness, astringency, sweetness and sourness.

From a sensory point of view, the concentration of procyanidins had a high impact on all attributes. The here found positive impact of procyanidins' concentration on astringency and bitterness had been previously observed. Maury et al. (2001) showed that a decrease in astringency sensation in red wines was in relation with decrease of procyanidins' concentration after fining. Vidal et al. (2004) demonstrated that from a 0.25 g/L up to 0.75 g/L of grape seed procyanidins extract the astringency was reinforced. As for bitterness, in the present work the 250 mg/L of apple procyanidins was not different from the control without procyanidins. Then 500 mg/L was slightly bitterer and 750 mg/L was significantly bitterer for all DPs. Vidal et al. (2004) observed any difference for bitterness of procyanidins concentration between 0.25 g/L and 0.75 g/L proposing that a high level of alcohol (from 11% vol to 15%) masks bitterness differences due to procyanidins. In cider, it would be possible for the low level of alcohol to highlight the impact of procyanidins' concentration. To stress this hypothesis, our results are in agreement with those of Kallithraka et al. (1997) who worked

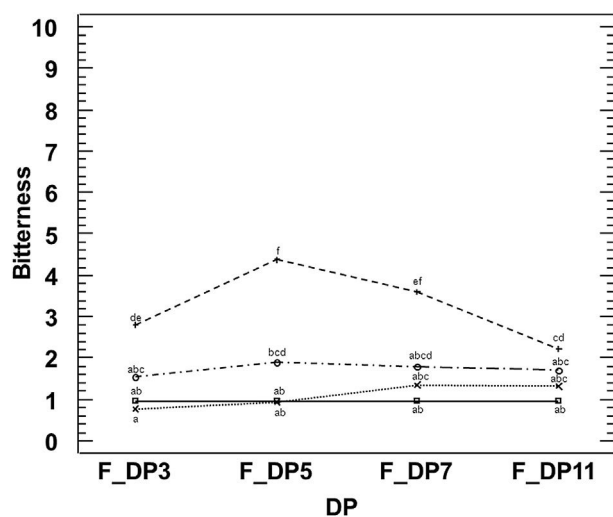


Fig. 1. Mean scores for bitterness as a function of the concentration of each procyanidin fraction (—•— 250 mg/L, - - - 500 mg/L, ···· 750 mg/L). Control sample without procyanidins (—◆—) is represented for each fraction. Different lower case letters represent significant differences ($p < 0.05$) among samples averages according to Student Neuman-Keuls (SNK).

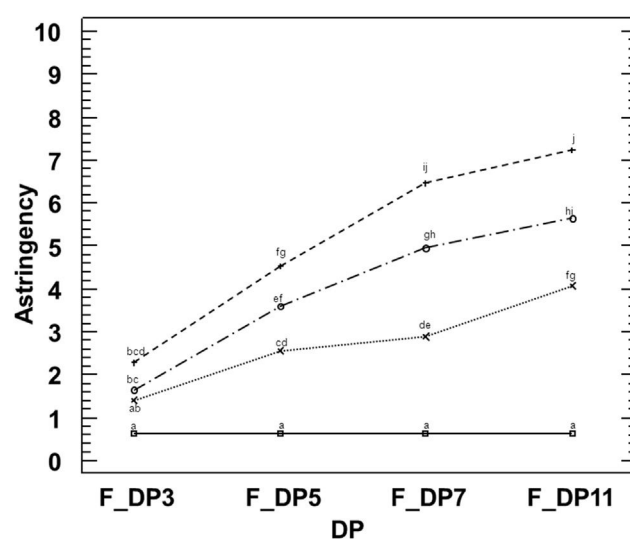


Fig. 2. Mean scores for astringency as a function of the concentration for each DP fraction (—•— 250 mg/L, - - - 500 mg/L, ···· 750 mg/L). Different lower case letters represent significant differences ($p < 0.05$) among samples averages according to Student Neuman-Keuls (SNK).

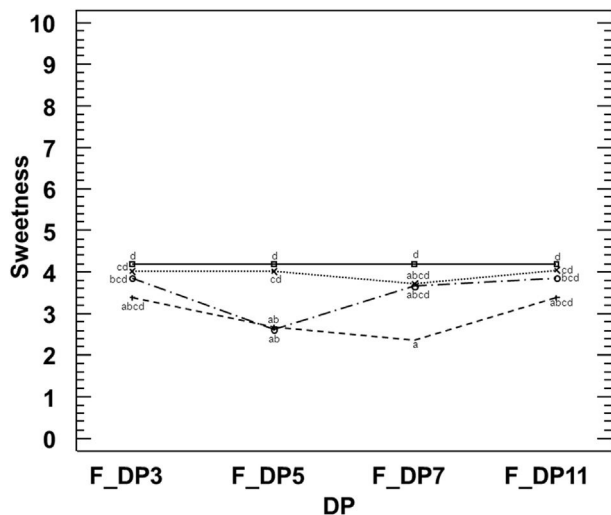


Fig. 3. Mean scores for sweetness as a function of the concentration for each procyanidin fraction (--- 250 mg/L, - - - 500 mg/L, - · - · 750 mg/L). Different lower case letters represent significant differences ($p < 0.05$) among samples averages according to Student Neuman-Keuls (SNK).

with other polyphenols in a wine like model solution with 10° alcohol. They showed a clear impact of 750 mg/L of catechin and 350 mg/ml epicatechin on bitterness.

The present work also confirmed that the polymerization degree is also an important factor when studying astringency and bitterness in cider. The higher aDP the more astringent products are, which was observed in several works in cider and wine (Arnold, Noble, & Singleton, 1980; Lea, 1990; Lea & Arnold, 1978; Maury et al., 2001; Peleg et al., 1999; Robichaud & Noble, 1990; Vidal et al., 2004, 2003). Nevertheless, our work highlights an interaction between concentration and the degree of polymerization for these two sensations, effect which had not been previously reported neither in cider nor in wine.

The difference of astringency between low and high concentrations for small DP is smaller than that observed for high and low concentrations of high DP. This could be explained by the same mechanism of astringency perception found in the red wine (Gawel, 1998) which results from combining at the same time the

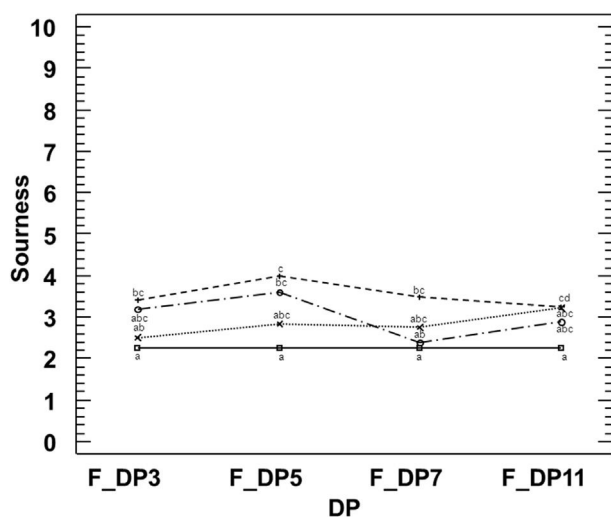


Fig. 4. Mean scores for sourness as a function of the concentration for each degree of polymerization fraction (--- 250 mg/L, - - - 500 mg/L, - · - · 750 mg/L). Different lower case letters represent significant differences ($p < 0.05$) among samples averages according to Student Neuman-Keuls (SNK).

effect of procyanidins size and the effect of concentration. In the present work, some astringency is observed for small DP when compared to the control model solution. This was in accordance with Peleg et al. (1999) who found astringency in monoric, dimeric but also trimeric flavonoids evaluated at 900 mg/L and mentioned a hypothesis from McManus Davis, Lilley, and Haslam (1981) that this is due to the presence of 1,2 hydroxy or 1,2,3 trihydroxy groups, generating precipitation of proteins or strong binding with them.

Concerning bitterness, our results are in accordance with Lea and Arnold (1978), indicating that in cider medium procyanidins' DP, (tetrameric for Lea & Arnold, 1978 and pentameric in our case) was bitterer than high DP. Nevertheless it is important to note that this higher bitterness for DP 5 is only observable with a 750 mg/L and not for lower concentration, results not observed by Lea and Arnold (1978). Other from the already mentioned, no authors had compared the bitterness of different purified fraction over an aDP of 3. Peleg et al. (1999) indicated in aqueous ethanol (1% vol/vol) that monomers at 0.9 g/L were bitterer than dimer and trimer but did not explore higher DP. In addition, Robichaud and Noble (1990) had tested catechin and a grape seed tannin extract (GST) composed mainly of tetrameric to octameric polymers of epicatechin and catechin. They observed at 1.2 g/L in a white wine that catechin was bitterer than the GST with higher DP. This result is not contradictory with the present ones since they did not analyse a fraction with mainly tetrameric and pentameric polymers.

The originality of the present study was also to evaluate the impact of the procyanidins on the perceived sweetness and sourness. Sweetness decreased and sourness increased depending on the polyphenol concentration despite the fact that fructose, malic acid and pH were the same in all samples. The concentration of procyanidins influenced the perception of both tastes whereas the degree of polymerization had no impact. Bitterness suppressing effect on sweet perception could be responsible of this result. The increase of procyanidins concentration increased the perceived bitterness and therefore, assessors perceived these samples as less sweet. This suppression effect of sweetness by bitter compounds is well known (Keast & Breslin, 2003; Walters, 1996) but had not been reported in cider before. Our hypothesis is that procyanidins do not affect sweetness perception directly but due to a cognitive interaction as a side effect of their effect on bitterness. Moreover, the enhanced perception of sourness in samples with higher concentration of procyanidins could be explained by bitter–sour interactions. This kind of interactions has been previously reported in a work on water model solution (Kamen, Pilgrim, Gutman, & Kroll, 1961) where sourness perception of citric acid was increased by the presence of caffeine. In the present work, bitter compounds as procyanidins could be having the same effect. Moreover, this phenomenon could also be explained by a sour–sweetness interaction as well. Sourness perception increased only with an increase in procyanidins concentration, at the same time that sweetness perception decreased. The suppression of sourness by sweetness is well documented (Keast & Breslin, 2003) and often tested by adding sweeteners in solution to observe this diminution of sourness. For cognitive reasons, if consumers perceive a sample as less sweet, they can perceive it more acidic. In this case, the increase of sourness would not be due directly to the procyanidins concentration but due to a dual cognitive interaction. Products with higher procyanidins concentration were bitterer so tasters perceived them less sweet and this weak sweetness perception would lead to an increase of sourness.

5. Conclusion

Our work highlights that procyanidins concentration plays a main role in bitterness and astringency perception. Moreover, the degree of polymerization is also an important factor. The increase in

the DP conducted to more astringent products and the effect was reinforced by concentration. For bitterness, the DP seemed to be less important but a higher sensation was observed with the pentamer at high concentration of procyanidins. Polyphenols also influenced the perceived sweetness and sourness confirming their importance in the balance of taste in cider.

It is to be noted that these results were obtained in a cider like model solution with low fructose, acid and alcohol contents and results should be confirmed in real ciders or by increasing alcohol concentration to be sure that same results are obtained with higher alcohol content. Further research goes in this direction aiming also to evaluate the interaction between DP and procyanidins concentrations with other cider matrix elements.

Acknowledgements

This work was carried out with the support from Region Bretagne and Region Pays de la Loire. Authors want to thank Cecile Bavay who trained the panel and all panelists for their motivation in such experimental work and Jérôme Pagès and Mara V. Galmarini for their precious advices.

References

- Arnold, R. A., Noble, A. C., & Singleton, V. L. (1980). Bitterness and astringency of phenolic fractions in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(3), 675–678.
- Boutteville, L., & Hauchecorne, A. (1875). *Le cidre*. Rouen: Léon Deshayes.
- Brossaud, F., Cheynier, V., & Noble, A. C. (2001). Bitterness and astringency of grape and wine polyphenols. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7(1), 33–39.
- Brugirard, A., & Tavernier, J. (1952). Les matières tanniques dans les cidres et les poirés. *Annales de Technologie Agricole*, 3, 311–343.
- Chira, K., Pacella, N., Jourdes, M., & Teissedre, P. L. (2011). Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet-Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age. *Food Chemistry*, 126(4), 1971–1977.
- Gawel, R. (1998). Red wine astringency: a review. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 4(2), 74–95.
- Guyot, S., Marnet, N., Laraba, D., Sanoner, P., & Drilleau, J.-F. (1998). Reversed-phase HPLC following thiolysis for quantitative estimation and characterization of the four main classes of phenolic compounds in different tissue zones of a French cider apple variety (*Malus domestica* Var. Kermerrien). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1698–1705.
- Guyot, S., Marnet, N., Sanoner, P., & Drilleau, J.-F. (2003). Variability of the polyphenolic composition of cider apple (*Malus domestica*) fruits and juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(21), 6240–6247.
- Haslam, E. (1980). In vino veritas: oligomeric procyanidins and the ageing of red wines. *Phytochemistry*, 19(12), 2577–2582.
- Kallithraka, S., Bakker, J., & Clifford, M. (1997). Evaluation of bitterness and astringency of (+)-catechin and (–)-epicatechin in red wine and in model solution. *Journal of Sensory Studies*, 12, 25–37.
- Kamen, J. M., Pilgrim, F. J., Gutman, N. J., & Kroll, B. J. (1961). Interactions of suprathreshold taste stimuli. *Journal of Experimental Psychology*, 62(4), 348.
- Kassara, S., & Kennedy, J. A. (2011). Relationship between red wine grade and phenolics. 2. Tannin composition and size. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(15), 8409–8412.
- Keast, R. S. J., & Breslin, P. A. S. (2003). An overview of binary taste-taste interactions. *Food Quality and Preference*, 14(2), 111–124.
- Kelm, M. A., Johnson, J. C., Robbins, R. J., Hammerstone, J. F., & Schmitz, H. H. (2006). High-performance liquid chromatography separation and purification of Cacao (*Theobroma cacao* L.) procyanidins according to degree of polymerization using a Diol stationary phase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(5), 1571–1576.
- Kennedy, J. A., & Jones, G. P. (2001). Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4), 1740–1746.
- Lea, A. G. (1990). Bitterness and astringency: the procyanidins of fermented apple ciders. *Developments in Food Science*, 25, 123–143.
- Lea, A. G., & Arnold, G. M. (1978). The phenolics of cider: bitterness and astringency. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29, 478–483.
- Lea, A. G., & Drilleau, J. F. (2003). Cidermaking. In A. G. Lea, & J. R. Piggott (Eds.), *Fermented beverage production* (pp. 59–87). New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Le Paulmier de Grantemesnil, J. (1589). *Traité du vin et du sidre (De vino et pomaco)* (J. d. Cahaigues, Trans.). Paris: Guillelmum Auvray.
- Le Quéré, J.-M., Husson, F., Renard, C. M. G. C., & Primault, J. (2006). French cider characterization by sensory, technological and chemical evaluations. *LWT – Food Science and Technology*, 39(9), 1033–1044.
- Mauray, C., Sarni-Manchado, P., Lefebvre, S., Cheynier, V., & Moutounet, M. (2001). Influence of fining with different molecular weight gelatins on proanthocyanidin composition and perception of wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(2), 140–145.
- McManus, J. P., Davis, K. G., Lilley, T. H., & Haslam, E. (1981). The association of proteins with polyphenols. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 7.
- Monagas, M., Gómez-Cordovés, C., Bartolomé, B., Laureano, O., & Ricardo da Silva, J. M. (2003). Monomeric, oligomeric, and polymeric flavan-3-ol composition of wines and grapes from *Vitis vinifera* L. Cv. Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22), 6475–6481.
- Noble, A. (1994). Bitterness in wine. *Physiology & Behavior*, 56(6), 1251–1255.
- Peleg, H., Gacon, K., Schlich, P., & Noble, A. C. (1999). Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(8), 1123–1128.
- Pöttering, H. G., & Necas, P. (2009). *Directives 2009/32/ce concernant les solvants d'extraction utilisés dans la fabrication des denrées alimentaires et de leurs ingrédients*. Strasbourg: Journal Officiel de l'Union Européenne.
- Ricardo-da-Silva, J., Bourzeix, M., Cheynier, V., & Moutounet, M. (1991). Procyanidin composition of Chardonnay, Mauzac and Grenache blanc grapes. *Vitis*, 30(4), 245–252.
- Robichaud, J. L., & Noble, A. C. (1990). Astringency and bitterness of selected phenolics in wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 53(3), 343–353.
- Sanoner, P., Guyot, S., Marnet, N., Molle, D., & Drilleau, J. F. (1999). Polyphenol profiles of French cider apple varieties (*Malus domestica* sp.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(12), 4847–4853.
- Shoji, T., Masumoto, S., Moriichi, N., Kanda, T., & Ohtake, Y. (2006). Apple (*Malus pumila*) procyanidins fractionated according to the degree of polymerization using normal-phase chromatography and characterized by HPLC-ESI/MS and MALDI-TOF/MS. *Journal of Chromatography A*, 1102(1–2), 206–213.
- Vidal, S., Courcoux, P., Francis, L., Kwiatkowski, M., Gawel, R., Williams, P., et al. (2004). Use of an experimental design approach for evaluation of key wine components on mouth-feel perception. *Food Quality and Preference*, 15(3), 209–217.
- Vidal, S., Francis, L., Guyot, S., Marnet, N., Kwiatkowski, M., Gawel, R., et al. (2003). The mouth-feel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine-like medium. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(6), 564–573.
- Walters, E. D. (1996). How are bitter and sweet tastes related? *Trends in Food Science & Technology*, 7(12), 399–403.

Sensory impact of polymerisation degree and concentration of procyanidins in an apple cider model solution

Ronan SYMONEAUX¹, Alain BARON², Nathalie MARNET², Remi BAUDUIN³, Sylvie CHOLLET⁴

¹LUNAM University, Groupe ESA, GRAPPE, F-49007 Angers, France

²INRA, UR117 Recherches Cidricoles et Biotransformation des Fruits et Légumes, F-35650 Le Rheu, France

³IFPC, F-35650 Le Rheu, France

⁴Groupe ISA, F- 59046 Lille, France

Contact: r.symoneaux@groupe-esa.com



Introduction

French cider quality is notably based on the presence of procyanidins responsible for bitterness and astringency. The importance of these polyphenols in the sensory perception is fairly well documented for wine while little information is found for cider. Only Lea & Arnold (1978) mentioned the role of the degree of polymerisation (DP) of procyanidins in the balance of cider organoleptic perception. These authors showed that a higher DP led to a more astringent cider while a lower DP led to a more bitter cider. In addition, to the best of our knowledge, the interaction between polymerisation degree and procyanidins concentration has not been yet investigated in cider.

Objective

The aim of this work was to study the sensory characteristics (sweet, sour, bitter and astringency) of procyanidins purified from cider apple, with different DP (from 3 to 11) and at three different concentrations in a cider-like model solution.

Material and Methods

Procyanidins extracts

Four fractions of procyanidins with different expected degrees of polymerisation (DP 3, 5, 7 & 11) were extracted from cider apple "Binet Rouge" and purified by preparative HPLC using food grade solvent according to the Codex Alimentarius (Table 1).

Model solution

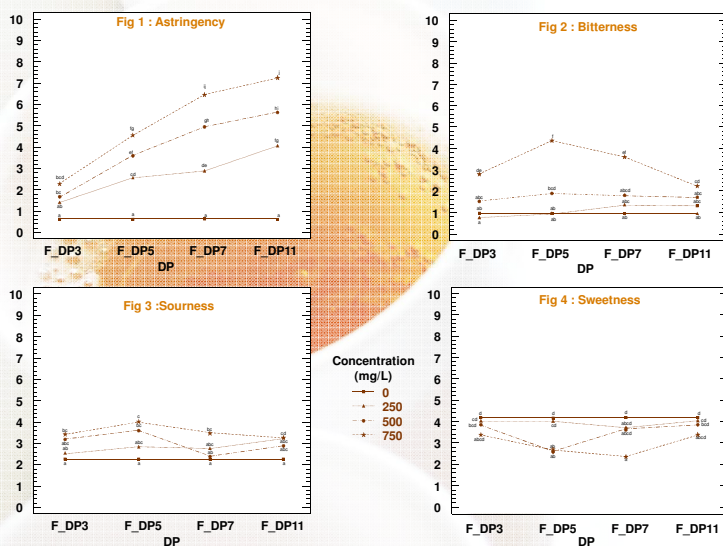
The procyanidins were mixed at three different concentrations (250, 500, 750 mg/L) in a model solution of cider consisting of alcohol (1.76%), fructose (8.3g/L) and malic acid (1.52g/L) with a pH of 4.12.

Descriptive sensory analysis

Sensory characteristics such as bitterness, astringency, sweetness and sourness were analyzed by a panel composed with 15 tasters trained during 20H on the evaluation of these 4 sensory sensations in water and cider model solutions. Panelists were asked to rate a total of twelve products and the cider model solution without procyanidins as a control on a 14 cm unstructured anchored with "0" and "10".

	F_DP3	F_DP5	F_DP7	F_DP11	
% Procyanidins	90.01	93.77	84.68	70.03	
% each DP / Total PCA	DP1	-	-	0.72	0.74
	DP2	5.46	1.59	0.57	1.17
	DP3	86.81	2.65	0,64	1.01
	DP4	5.18	11.55	0.96	1.02
	DP5	2.54	67.06	2.60	1.56
	DP6	-	6.89	18.24	1.10
	DP7	-	5.20	68.29	1.61
	DP8	-	5.06	6.50	3.28
	DP9	-	-	1,28	9.46
	DP10	-	-	-	27.10
	DP11	-	-	0.27	39.25
	DP12	-	-	-	12.69
Calculated aDP of each fraction	3.05	5.11	6.74	10.02	

Table 1 : Procyanidins composition of each extract



Figures 1 to 4 : Average scores for each sample according to the concentration for each DP

Results

- Bitterness and astringency increased with the concentration of procyanidins.
- Interactions for astringency ($p < 0.001$) and bitterness ($p < 0.1$) between DP and concentration meaning that impact of the DP varied with concentration.
- F_DP 5 was significantly bitterer only at the highest concentration.
- Concerning astringency : the lowest concentration of F_DP3 was more astringent than the control solution without procyanidins but less astringent than F_DP11 at the same concentration.
- The differences in astringency between the three concentrations of low F_DP3 was small while for F_DP11 the differences between the low and high concentration was larger
- The high concentrations were significantly more astringent
- The perceived sweetness and sourness changed according to concentration of procyanidins .

Conclusion & Perspectives

These results are of interest to understand the role of procyanidins in the sensory balance of ciders. The procyanidins concentration plays a major role in the perception of bitterness and astringency but also has an impact on sweetness and sourness. The DP is also important to consider since it influences astringency and bitterness and interacts with the concentration. Further research on interactions between all components of the matrix will be done.

Acknowledgement

This work was carried out with the support from Region Bretagne and Region Pays de la Loire. Authors want to thank Cecile Bavay who trained the panel and of course all panellists for their motivation in such experimental work.



Impact of apple procyanidins on sensory perception in model cider (part 2): Degree of polymerization and interactions with the matrix components



R. Symoneaux^{a,*}, S. Chollet^b, R. Bauduin^c, J.M. Le Quéré^d, A. Baron^d

^aLUNAM Université, Groupe ESA, UPSP GRAPPE, 55, rue Rabelais, BP 30748, F-49007 Angers, Cedex 01, France

^bUniversité Catholique de Lille, Groupe ISA, 48 boulevard Vauban, F-59046 Lille, France

^cInstitut Français des Productions Cidricoles, Domaine de la Motte, F-35650 Le Rheu, France

^dINRA, UR1268 BIA – Polyphenols, Reactivity, Processes, F-35650 Le Rheu, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 October 2013

Received in revised form

16 December 2013

Accepted 9 January 2014

Keywords:

Average degree of polymerization

Bitterness

Astringency

Sourness

Sweetness

ABSTRACT

The impact of the degree of polymerization (DP) of procyanidins and its interactions with fructose, acidity and alcohol in a model solution of cider was investigated. Four sensory characteristics (bitterness, astringency, sweetness and sourness) were studied. At 750 mg/L of procyanidins, the DP impacted astringency and bitterness but not sweetness or sourness. The medium DP (tetramer) of apple procyanidins was the most bitter and astringency increased with the DP. The impact of ethanol, fructose and acidity on the four sensory attributes was also examined. These results provide insights into how the components interact to produce the taste of cider.

© 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

French cider is a slightly alcoholic, fermented apple beverage composed of water, alcohol, volatiles, sugar (mainly fructose), organic acids and polyphenols (Lea & Drilleau, 2003). Its flavor balance (sourness, sweetness, bitterness and astringency) is a major characteristic related to its composition. Cider producers select apple cultivars, choose processes and blend batches to obtain specific sensory characteristics. They need to understand better the link between cider composition and taste in order to control better cider quality and reproducibility.

Lea and Arnold (1978) were the first to work on cider sensory characteristics, focusing on the impact of phenolics and of the degree of polymerization (DP) of apple procyanidins on bitterness and astringency. They used procyanidins extracted from two different ciders and dissolved in water. Astringency was related to higher levels of polymeric procyanidins. The contribution of tetrameric procyanidins to bitterness was shown in one sample of the two studied. Nevertheless, they mentioned some limitations of their

study in relation to the high concentration of polymeric procyanidins compared to other oligomers in their cider extracts, which could create artefacts. For this reason, they carried out an informal tasting of purified fractions of procyanidins which identified the peak of bitterness at 2 g/L of tetramers in water. Recently, Symoneaux, Baron, Marnet, Bauduin, and Chollet (2013) confirmed Lea and Arnold's results when working with purified apple procyanidins in a model cider solution. They identified a peak of bitterness for the pentamer but only at a concentration of 750 mg/L. They also highlighted that the effect of procyanidin concentration was greater than the effect of the DP on the perception of bitterness and astringency. Moreover, procyanidin concentration played a role in sweetness and sourness perception.

Lea and Arnold (1978) tested the impact of sugar content (s.g. 1005 vs. 1010), ethanol (water vs. 5% Vol. EtOH) and pH (3.5 vs. 4.0) on the bitterness and astringency perception of cider enriched with a high concentration of procyanidins (4 g/L). They observed a significant positive impact of sugar and ethanol on bitterness whereas astringency was reduced by ethanol. In addition, sugar had no impact on this latter sensation while pH had no impact on astringency or bitterness. This work was limited to a few comparisons and only bitterness and astringency. To the best of our knowledge, no other study has been carried out on ciders in order to study the impact of the matrix components.

DOI of original article: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.11.016>.

* Corresponding author. Tel.: +33 2 41 23 55 55; fax: +33 2 41 23 55 00.

E-mail address: r.symoneaux@groupe-esa.com (R. Symoneaux).

Nevertheless, some research has been done on wine and beer, two alcoholic beverages close to cider in terms of composition and containing polyphenols. Several studies have investigated the impact on sensory attributes of the interactions between different compounds and procyanidins from grape or hops. Like for cider, usually when polyphenols were involved, only bitterness and astringency were evaluated (Arnold, Noble, & Singleton, 1980; Brossaud, Cheynier, & Noble, 2001; Robichaud & Noble, 1990; Vidal et al., 2004). Vidal et al. (2004) indicated that bitterness was not modified by changing tannin concentrations but they hypothesized that ethanol (from 11 to 15% Vol.) could hide the difference in bitterness due to procyanidins. All astringency attributes were mainly determined by the concentration of condensed tannins. Thus, astringency was reduced by acidic polysaccharides and by ethanol. Nevertheless, they observed a significant positive effect of ethanol on bitterness, and a reduction in the presence of pro-teoglycans. Fontoin, Saucier, Teissedre, and Glories (2008) studied the effect of ethanol and acidity on astringency and bitterness in a model wine solution with added grape seed oligomers. They found that pH impacted only astringency while ethanol reduced perceived astringency and enhanced bitterness.

No authors have studied the role of procyanidins on sourness and sweetness in wine. Nevertheless, some have looked at the impact of wine components on these two characteristics. Zamora, Goldner, and Galmarini (2006) investigated the interactions between sourness and sweetness but the significant effect of ethanol occurred between 4% and 12% Vol., out of the range for cider. They also studied the fructose effect between 2 g/L and 7 g/L, which is lower than the concentration in French ciders. Ishikawa and Noble (1995) also examined the perception of sweetness and astringency in wine but again in concentrations (from 0 g/L to 200 g/L) which are not comparable to ciders.

Despite some interesting results on how components interact in wine or beer, these are not easily generalized to cider. Understanding the relationships and interactions between components in a more complex model solution with concentrations close to those encountered in real products has become essential and needs to be adapted for each product. The aim of the present work was to investigate the impact of the DP of purified apple procyanidin extracts taking into account the role of the matrix components, such as fructose, acidity and ethanol, at concentrations encountered in French cider. A factorial experimental design was carried out in order to evaluate simultaneously the impact of the DP of procyanidins and of sugar, ethanol and acidity as the main effects on astringency, bitterness, sweetness and sourness in a model cider-like solution.

2. Materials and methods

2.1. Purified procyanidins

All procyanidins used in this project were obtained using a food-grade quality process described in Symoneaux et al. (2014). An acetonitrile fraction rich in procyanidins was obtained from 50 kg of Binet Rouge apple cultivar. This fraction was purified on a reverse-phase C18 preparative column. Then, the oligomers were fractionated by chromatography on a Diol preparative normal-phase column (Kelm, Johnson, Robbins, Hammerstone, & Schmitz, 2006).

Eleven chromatographic peaks were clearly observed corresponding to the different oligomers from 2 to 12. Each purified fraction corresponding to each degree of polymerization was collected separately, concentrated under vacuum then freeze-dried. For the present experiments, fractions corresponded to the degrees of polymerization 2, 4, 6 (later called F_DP2, F_DP4, F_DP6) and a mix of 7, 8 and 9, less easily separated (called F_DP8).

The quality of these four fractions was tested as explained in Symoneaux et al. (2014) following the protocol defined by Guyot, Marnet, Laraba, Sanoner, and Drilleau (1998) for the mass of procyanidins in each fraction and using phloroglucinolysis (Kennedy & Jones, 2001) in order to determine the average degree of polymerization (aDP).

Table 1 presents the four fractions, the concentration of total procyanidins and the concentration of each oligomer. The obtained powder contained from 72 to 95% of procyanidins. In all samples, monomeric procyanidins were negligible. Fractions F_DP2, F_DP4 and F_DP6 contained around 70% of the expected oligomer, 2, 4 and 6, respectively. Fraction F_DP8 was more dispersed but contained more than 79% of procyanidins with a DP greater than 7 (aDP of 7.75). It was considered representative of the high DP fraction.

2.2. Model cider solution and experimental design

The aim of the experimental design was to study the effect of the degree of polymerization and the interactions with each main component of cider on bitter, astringent, sweet and acidic characteristics. For this reason, it was decided to build a model cider using a water solution of ethanol, fructose and malic acid at a range of concentrations encountered in commercial French ciders. A large database of 90 products (Le Quéré, Husson, Renard, & Primault, 2006) was used to determine the low and high levels of fructose, malic acid and ethanol. Fructose was fixed at two levels: 20 g/L and 60 g/L, and ethanol at 2.7% Vol. and 5.7% Vol. For the acidic compounds, it was decided to combine malic acid composition and pH. The low level of acidity was fixed at 3.30 g/L of malic acid with a pH of 3.94 and the high level was 5.04 g/L with a pH of 3.48. The pH was obtained by buffering with a KOH solution since potassium is an important mineral in cider. Procyanidin concentration was fixed at 750 mg/L for each fraction since Symoneaux et al. (2014) observed a significant effect of procyanidin DP only at this level of procyanidins.

A half fractional factorial design (Table 2) was established with four factors. The first (named A) was the DP of procyanidins with four levels corresponding to the four fractions. The other three, fructose (B), ethanol (C) and acidity (D), had two levels each. The experimental design consisted of 16 samples which enabled the main effect of the DP (A), its quadratic effects (AA), and interactions between the DP and the other components (AB, AC, AD) to be studied (Table 2). The three other main effects were aliased with

Table 1
Procyanidin composition of the different fractions studied.

	F_DP2	F_DP4	F_DP6	F_DP8
Mg of procyanidins/100 mg of purified procyanidin fraction	95	72	83	82
Mg of each DP/100 mg procyanidins				
DP1			0.5	1.0
DP2	69.5	2.5	1.2	3.0
DP3	8.6	5.9	1.1	2.6
DP4	14.9	72.9	2.7	3.3
DP5	7.0	8.7	13.9	4.1
DP6		5.9	69.1	6.7
DP7		1.9	7.0	13.4
DP8		2.1	1.9	29.9
DP9			1.3	19.7
DP10			1.3	7.7
DP11				5.0
DP12				3.7
Calculated aDP of each fraction	2.59	4.23	5.90	7.75

DP: degree of polymerization; aDP: average degree of polymerization. F_DP2, F_DP4, F_DP6 and F_DP8 are the names of the four purified fractions (F_) with the number corresponding to the aDP.

Table 2
Experimental design and sensory results.

Sample	A:DP	B: Fructose	C: Ethanol	D: Acidity	DP	aDP	Fructose (g/L)	Ethanol (%Vol.)	Malic acid (g/L)	pH	Mean values per attribute			
											Sweetness	Sourness	Bitterness	Astringency
S_01	×1	−1	−1	−1	F_DP2	2.59	20	2.7	3.30	3.94	1.20 ^a	2.88 ^{abc}	1.72 ^a	1.65 ^a
S_02	×1	−1	1	1	F_DP2	2.59	20	5.7	5.04	3.48	1.37 ^a	6.03 ^f	4.35 ^{de}	4.32 ^d
S_03	×1	1	−1	1	F_DP2	2.59	60	2.7	5.04	3.48	5.60 ^{bc}	5.62 ^{ef}	1.97 ^a	2.75 ^{ab}
S_04	×1	1	1	−1	F_DP2	2.59	60	5.7	3.30	3.94	6.42 ^c	2.51 ^{ab}	2.78 ^{abc}	1.64 ^a
S_05	×2	−1	−1	−1	F_DP4	4.23	20	2.7	3.30	3.94	1.19 ^a	2.64 ^{abc}	5.58 ^{ce}	4.04 ^{cd}
S_06	×2	−1	1	1	F_DP4	4.23	20	5.7	5.04	3.48	1.78 ^a	5.22 ^{def}	5.80 ^e	4.82 ^{de}
S_07	×2	1	−1	1	F_DP4	4.23	60	2.7	5.04	3.48	5.04 ^b	4.73 ^{def}	2.72 ^{abc}	4.14 ^d
S_08	×2	1	1	−1	F_DP4	4.23	60	5.7	3.30	3.94	6.44 ^c	2.88 ^{abc}	3.92 ^{bcd}	2.85 ^{abc}
S_09	×3	−1	−1	−1	F_DP6	5.90	20	2.7	3.30	3.94	1.67 ^a	3.79 ^{bcd}	2.55 ^{ab}	5.05 ^{de}
S_10	×3	−1	1	1	F_DP6	5.90	20	5.7	5.04	3.48	1.48 ^a	4.90 ^{def}	4.25 ^{cde}	5.72 ^{ef}
S_11	×3	1	−1	1	F_DP6	5.90	60	2.7	5.04	3.48	4.75 ^b	4.22 ^{cde}	2.37 ^{ab}	5.89 ^{ef}
S_12	×3	1	1	−1	F_DP6	5.90	60	5.7	3.30	3.94	6.61 ^c	2.05 ^a	3.05 ^{abcd}	3.93 ^{bcd}
S_13	×4	−1	−1	−1	F_DP8	7.75	20	2.7	3.30	3.94	1.07 ^a	3.12 ^{abc}	2.43 ^{ab}	7.31 ^g
S_14	×4	−1	1	1	F_DP8	7.75	20	5.7	5.04	3.48	1.30 ^a	5.27 ^{def}	3.00 ^{abcd}	7.82 ^g
S_15	×4	1	−1	1	F_DP8	7.75	60	2.7	5.04	3.48	4.78 ^b	4.78 ^{def}	1.85 ^a	6.80 ^{fg}
S_16	×4	1	1	−1	F_DP8	7.75	60	5.7	3.30	3.94	6.69 ^c	2.00 ^a	3.20 ^{abcd}	5.91 ^{ef}

DP: degree of polymerization. aDP: average degree of polymerization. F_DP2, F_DP4, F_DP6 and F_DP8 are the names of the four purified fractions (F_.) with the number corresponding to the aDP. Different lower case letters represent significant differences ($p < 0.05$) between sample averages according to the Student Neuman-Keuls (SNK) test.

interactions; fructose (B) with CD, the ethanol factor (C) with BD and acidity (D) with BC.

2.3. Sensory evaluation by a trained panel

2.3.1. Panel composition and training

The sensory panel was composed of 13 paid assessors from the Ecole Supérieure d'Agriculture (4 males and 9 females aged from 20 to 68 years-old). They were recruited specifically for a previous experiment about sensory characterization of procyanidins in a model cider (Symoneaux et al., 2014). Panelists were informed about the products they had to evaluate (purified procyanidins in a model solution) and they gave their informed consent. They were trained only on sourness, sweetness, bitter taste and astringency. Before the characterization of the 16 samples, panelists had around 50 h of training on the sensory evaluation of polyphenols in water and in model solutions. The concentrations of fructose, malic acid and ethanol used for training were the same as those used in the experimental design samples.

2.3.2. Tasting conditions and presentation of samples

Tasting took place in individual computerized booths according to NF ISO 8589 norms, in a sensory room at $21 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$ under red light. Rinsing between samples was done with mineral water and a low-salt biscuit. The 16 samples were presented in a sequential monadic way based on a William Latin-square arrangement. Scores were collected by FIZZ (version 2.10; Biosystems, Courtenon, France).

2.4. Data analysis

All data analyses were carried out using Statgraphics Centurion XVI (Version 16.1.18, Warrenton, USA). First a two-way ANOVA with "Sample" and "Judge" as factors was applied to validate the ability of the panel to distinguish between the 16 samples. The mean intensities were compared by an SNK multiple comparison test. Then, the mixed factorial experimental design was analyzed. A variance analysis for each attribute was carried out in order to determine which main effect and interactions were significant. Standardized Pareto diagrams were analyzed for each attribute and some graphs were obtained using regression coefficients from the experimental design and predicting astringency and bitterness for specific matrix conditions.

3. Results

Panelists were able to distinguish significantly between the 16 samples. Despite a significant "Judge effect" in the two-way ANOVA, the "Sample effect" was also highly significant for all attributes ($p < 0.0001$) (data not shown). Samples were clearly differentiated (Table 2). Table 3 presents the probability value for each effect and interaction of the experimental design. A significant impact of fructose was observed for each attribute but with a p -value of only 0.0657 for sourness. The amount of acid in the model solution significantly modified the perception of sourness, and also sweetness and astringency, but had no impact on bitterness. The quantity of alcohol influenced both bitterness and sweetness. Finally, the impact of the DP of procyanidins was limited to astringency with a direct effect and to bitterness with a quadratic effect. It is noticeable that no interaction between the degree of polymerization and the three other components (fructose, acidity and ethanol) was significant.

3.1. Astringency

Fig. 1a is the standardized Pareto diagram for astringency. It summarizes several statistics on histograms where each bar is proportional to the absolute value of its standardized effect. The degree of polymerization significantly modified the perceived astringency of the samples. The higher the aDP was, the more astringent the samples were. The non-significance of the quadratic effect (AA) indicated that the effect was linear. Astringency was also significantly increased by acid content; products with a higher concentration of malic acid (and lower pH) were more astringent.

Table 3
Probability levels of significance of the main effects and interactions.

Factors	Bitterness	Astringency	Sweetness	Sourness
A:DP	0.2515	<0.0001	0.6076	0.3218
B:Fructose	0.0035	0.0026	<0.0001	0.0657
C:Ethanol	0.0007	0.7854	0.0005	0.7344
D:Acidity	0.6825	<0.0001	0.0070	<0.0001
AA	0.0009	0.4263	0.7810	0.5137
AB	0.2956	0.7427	0.7498	0.4513
AC	0.5395	0.1854	0.4614	0.5349
AD	0.3278	0.1895	0.3126	0.4033

DP: degree of polymerization.

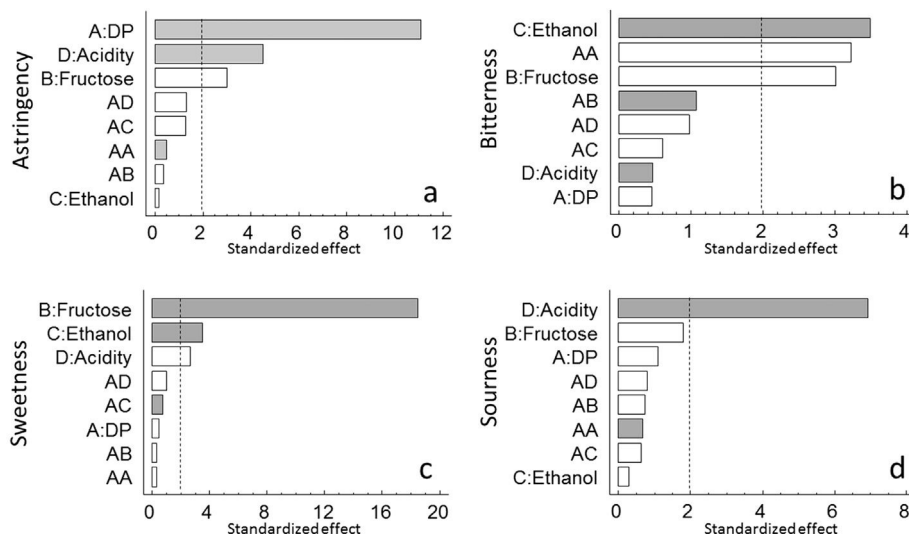


Fig. 1. Pareto charts showing the standardized effects of the DP (degree of polymerization) of procyanidins, fructose, acidity, ethanol content and interactions on (a) astringency, (b) bitterness, (c) sweetness, (d) sourness. The color of the bar shows whether the effect is positive (gray) or negative (white) on the studied attribute. The vertical line indicates the lower limit of significance of the effects at a level of 5%.

Fructose also had a significant impact on the perceived astringency. As its concentration increased, the perception of astringency decreased. All interactions between the DP and fructose, acidity and ethanol were not significant. These results indicated that the observed impact of the degree of polymerization on astringency were not dependent on the level of the other three factors.

Fig. 2 presents predicted astringency as a function of the degree of polymerization calculated with the regression coefficient of the significant factors (Table 4) for two contrasted conditions of acid and sugar contents. This representation clearly shows the linear change in astringency depending on the DP value and how much the condition with low sugar and high acidity is more astringent than the opposite condition with a high sugar content and less acidity.

3.2. Bitterness

The impact of the different factors on bitterness is summarized on the standardized Pareto diagram in Fig. 1b. Ethanol was the first component impacting positively on bitterness. Samples with 5.7% Vol. were more bitter than products with 2.7% Vol. Then the

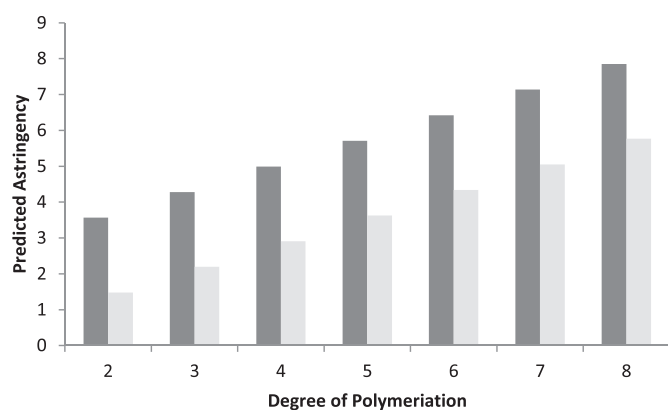


Fig. 2. Effect of degree of polymerization on astringency for ■ fructose = 20 g/L, malic acid = 5.04 g/L, pH = 3.48 (dry cider) and for □ fructose = 60 g/L, malic acid = 3.30 g/L and pH = 3.94 (sweet cider).

quadratic effect of the DP was significant with a negative sign meaning that bitterness reached a maximum between F_DP2 and F_DP8. Fig. 3 represents the predicted bitterness calculated from the coefficients of regression of the model (Table 4) in conditions found in average sweet or dry French cider (with 2.7% Vol. alcohol and 60 g/L fructose or 5.7% Vol. alcohol and 20 g/L fructose, respectively). This confirmed the effects of ethanol and sweetness on bitterness. It also showed the quadratic effect of the degree of polymerization. Intermediate DPs were more bitter than low and high DPs. This result was confirmed when the mean values of the 16 samples were studied (Table 2). The sample containing fractions with a high concentration of tetrameric procyanidins was more bitter than samples containing the other fractions in the same conditions of fructose, acidity and alcohol.

3.3. Sweetness and sourness

Despite the main aim of the experimental design being to study the perception of bitterness and astringency, the other characteristics of sourness and sweetness were also observed for their main effects. Fig. 1c and d represent the standardized Pareto diagrams for sweetness and sourness, respectively. The degree of polymerization of procyanidins with a concentration of 750 mg/L had no impact on these two attributes. Not surprisingly, fructose had a very positive impact on sweetness perception. To a lesser extent, a positive effect of ethanol and a negative effect of acidity were observed. Sourness was also impacted positively by acidity whereas a small decrease

Table 4
Coefficients of the general linear model for the four attributes.

Factors	Bitterness	Astringency	Sweetness	Sourness
Constant	0,2299	-1,0188	-0,4548	-1,7423
A:DP	1,3103	0,7143		
B:Fructose	-0,0244	-0,0212	0,1102	
C:Ethanol	0,3817		0,2830	
D:Acidity		0,7101	-0,3730	1,3567
AA	-0,1395			
AB				
AC				
AD				

DP: degree of polymerization.

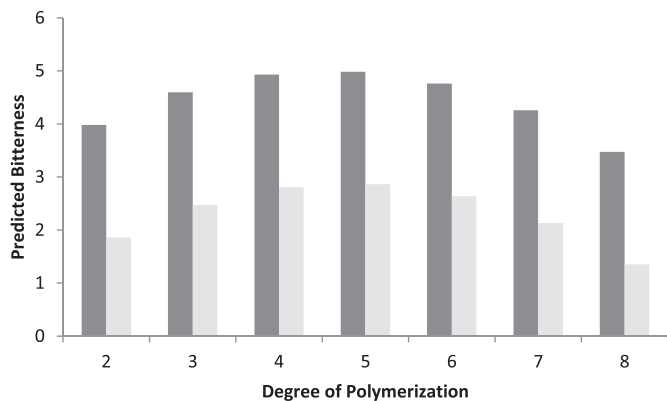


Fig. 3. Effect of degree of polymerization on bitterness for ■ fructose = 20 g/L and ethanol = 5.7% Vol. (dry cider) and for □ fructose = 60 g/L, ethanol = 2.7% Vol. (sweet cider).

was observed with fructose ($p = 0.0657$). Ethanol had no impact on sourness perception.

4. Discussion

4.1. What is the impact of the DP of procyanidins on astringency and what are its interactions with sucrose, acidity and ethanol?

The degree of polymerization of procyanidins has an impact on astringency. The higher the degree of polymerization, the more astringent the products are. This impact has previously been described in wine (Arnold et al., 1980; Peleg, Gacon, Schlich, & Noble, 1999; Robichaud & Noble, 1990; Vidal et al., 2004, 2003) but only twice in cider by Lea and Arnold (1978) and Symoneaux et al. (2014). Astringency results from hydrogen bonding between *o*-diphenolic groups and salivary proteins causing them to precipitate. The greater the procyanidins, the greater their ability to form these bonds and to precipitate the proteins (Zanchi et al., 2008) and thus the more astringent the products are.

Astringency was also modified in relation to the sugar and acidity composition of the model solution. Acidity enhances the perceived astringency. The literature indicates that only pH has a significant impact on astringency. In wines, several studies found that low pH wines increased tannin oligomer astringency (Guinard, Pangborn, & Lewis, 1986; Noble, 1998). Sowalsky and Noble (1998) found that the astringency elicited by acids is only a function of pH and not of the acid concentration. Nevertheless, for a pH between 3.5 and 4.0 in a model wine solution with 11% Vol. of ethanol, Fontoin et al. (2008) did not observe a significant effect. In the present study on cider with a pH between 3.5 and 4, our results are significant. This could be due to the fact that, in our study, pH and acidity were linked whereas for Fontoin et al. (2008), the different pHs were evaluated as an independent factor. Panelists may also be more sensitive when working between two concentrations, as in the present study, than working on these two concentrations among two others with lower pH (2 and 3.5). Another explanation results from an interaction between ethanol content and the acidity effect. In fact, the use of 11% Vol. of ethanol to reduce the astringency could hide the impact of pH, which does not occur when the ethanol content is between 2.7 and 5.7% Vol.

The decrease in astringency with sucrose was observed previously by Ishikawa and Noble (1995). The “astringency time parameters” of solutions with grape seed tannins, 13.9% Vol. ethanol and a pH of 3.78, are significantly decreased by addition of 50 g/L of sucrose or more. This phenomenon is probably due to an increase in the viscosity of the solution since Smith, June, and Noble (1996)

found that astringency is reduced by increasing viscosity and not by the perceived sweetness of aspartame. In two model ciders with 4 g/L of procyanidin extract (Lea & Arnold, 1978), the difference of approximately 11 g/L of sugar was not sufficient to modify the astringency. In the present study, working with real cider concentrations, 40 g/L of fructose was efficient to reduce significantly the astringency given by 750 mg/L of procyanidins, probably due to an increase in viscosity caused by fructose. Ethanol could also modify astringency by changing the viscosity of the solution (Fontoin et al., 2008) but, in the present model solution with a difference of 3% vol., the gap is not large enough to modify the perceived astringency.

4.2. What is the impact of the DP on bitterness?

The greater bitterness of a medium DP, as first reported by Lea and Arnold (1978) for tetramers and confirmed by Symoneaux et al. (2014), was observed again in the present study but with pentameric procyanidins. At 750 mg/L of procyanidins, the presence of increasing concentrations of sugar, acid and ethanol did not hide this particular property of procyanidins although the bitterness was enhanced by ethanol and reduced by sucrose. This impact of alcohol on the molecules responsible for bitterness, and more precisely due to polyphenols, has often been described (Chialva & Dada, 1990; Fischer & Noble, 1994; Lea & Arnold, 1978; Martin & Pangborn, 1970; Noble, 1994; Panovska, Sediva, Jedelska, & Pokorny, 2008; Pyle, 1986; Thorngate, 1992). Moreover, ethanol itself can elicit bitterness as mentioned by Noble (1994) and Scinska et al. (2000). Nevertheless, the difference of 3% Vol. observed in cider could have been non-significant since Fontoin et al. (2008) found no differences between two different concentrations of alcohol (0 and 7% Vol.) using solutions with 2 g/L of tannins, 4 g/L of tartaric acid and pH 3.5. A significant effect was observed only for ethanol concentrations over 16% Vol. in vermouth solutions (Panovska et al., 2008). In the context of the present experiment with the concentrations of procyanidins observed in cider, the difference of 3% Vol. is significant to modify bitterness. Samples with higher ethanol concentrations are significantly more bitter than products with 2.7% Vol. Concerning sucrose, numerous authors have reported this reductive effect in model wine solutions (Burns & Noble, 1985; Green, Lim, Osterhoff, Blacher, & Nachtigal, 2010; Keast & Breslin, 2003; Noble, 1994). Our results are in agreement with those of Lea and Arnold (1978) who observed this decrease in bitterness for a difference of 10 g/L in model cider solutions. Finally, acidity had no impact on bitterness, which is in accordance with results obtained in wine (Fischer & Noble, 1994; Fontoin et al., 2008) and in cider (Lea & Arnold, 1978).

4.3. Can the DP modify perceptions of sweetness and acidity?

Whatever the different degrees of polymerization, neither sweetness nor sourness perception was modified at a concentration of 750 mg/L of procyanidins. These results are in accordance with the work done by Symoneaux et al. (2014) who observed that both attributes were modified only by procyanidin concentration and not by the degree of polymerization itself. In numerous works, sweetness is found to be reduced by bitter compounds (Calvino, García-Medina, & Cometto-Muniz, 1990; Keast & Breslin, 2003; Walters, 1996). Nevertheless, in the case of the tetrameric fraction at 750 mg/L in a model cider solution, the bitterness was not strong enough to reduce the perceived sweetness. The sweetness was thus increased by sucrose and also ethanol addition. The latter enhanced the sweetness slightly due to a sweet contribution of ethanol itself (Scinska et al., 2000) and has been observed in model solutions (Zamora et al., 2006) but never in cider. The observed effect of malic

acid and pH was expected. The reduction in sweetness by acid is well described in the literature (Bartoshuk, 1975; Green et al., 2010; Keast & Breslin, 2003). Finally, sourness was not modified by acidity itself (malic acid and pH). The expected decrease in sourness by sucrose, as noted in the literature (Bartoshuk, 1975; Martin & Pangborn, 1970; Pelletier, Lawless, & Horne, 2004; Zamora et al., 2006), was observed but with a *p-value* just over 0.05. The impact of ethanol on the suppression of sourness as mentioned by Martin and Pangborn (1970) was not observed here, probably due to the low range of ethanol studied. Zamora et al. (2006) also noted no impact of ethanol on sourness unless when comparing solutions with 4% Vol. vs. 12% Vol. ethanol concentrations but this range of concentrations was not tested in the present study.

5. Conclusion

The present work indicates how cider components impact sweetness, sourness, bitterness and astringency. A fractional factorial design was used to study the impact of the degree of polymerization of procyanidins and interactions with fructose, ethanol and acidity on these four attributes. The main highlight is that, for a concentration of 750 mg/L of procyanidins, the fraction composed of mainly tetramers or pentamers of procyanidins was the most bitter. The degree of polymerization also impacted astringency, which increased as the DP increased. Moreover, the DP had no impact on sweetness and sourness.

The specificity of each constituent in the beverage (sugar, procyanidin type, acid, ethanol) and their concentrations explain the differences between the results in the literature. Authors have often studied the impact of one or two constituents on sensory attributes over a large range from 0 to the concentration observed in a particular drink. Thus, they obtain controversial results with sometimes no significant effect when the data are thoroughly analyzed to compare the different concentrations studied. The use of a factorial design in order to study the impact of several components on perceived sweetness, sourness, bitterness and astringency enables the impact of each component and some interactions in the range observed in real products to be obtained simultaneously. This approach is more informative and can be the basis for developing predictive models integrating several designs.

The focus on cider concentration provides some special features of the impact of each component and will give indications for producers to adapt the sensory characteristics of their products based on their composition. Notably, modifications in the procyanidin profile independently of the concentration could modify the perception of both astringency and bitterness. These results should be confirmed by a study on the additivity between DPs. Although purified DP fractions give clear results, nothing is yet known about the way in which the different DPs could interact in real cider.

Acknowledgments

This work was carried out with support from the Region Bretagne and Region Pays de la Loire. The authors wish to thank Nathalie Marnet for the procyanidin purification, Catherine Ouvrard who trained the panel, all the panelists for their motivation in such experimental work, and Mara V. Galmarini for her valuable advice during the writing of this manuscript.

References

- Arnold, R. A., Noble, A. C., & Singleton, V. L. (1980). Bitterness and astringency of phenolic fractions in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(3), 675–678.
- Bartoshuk, L. M. (1975). Taste mixtures: is mixture suppression related to compression? *Physiology & Behavior*, 14(5), 643–649.

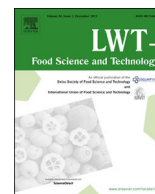
- Brossaud, F., Cheynier, V., & Noble, A. C. (2001). Bitterness and astringency of grape and wine polyphenols. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7(1), 33–39.
- Burns, D. J. W., & Noble, A. C. (1985). Evaluation of the separate contributions of viscosity and sweetness of sucrose to perceived viscosity, sweetness and bitterness of vermouth. *Journal of Texture Studies*, 16(4), 365–380.
- Calvino, A. M., García-Medina, M. R., & Cometto-Muniz, J. E. (1990). Interactions in caffeine–sucrose and coffee–sucrose mixtures: evidence of taste and flavor suppression. *Chemical Senses*, 15(5), 505–519.
- Chialva, F., & Dada, G. (1990). Bitterness in alcoholic beverages. *Developments in Food Science*, 25, 103–122.
- Fischer, U., & Noble, A. C. (1994). The effect of ethanol, catechin concentration, and pH on sourness and bitterness of wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45(1), 6–10.
- Fontoin, H., Saucier, C., Teissedre, P.-L., & Glories, Y. (2008). Effect of pH, ethanol and acidity on astringency and bitterness of grape seed tannin oligomers in model wine solution. *Food Quality and Preference*, 19(3), 286–291.
- Green, B. G., Lim, J., Osterhoff, F., Blacher, K., & Nachtigal, D. (2010). Taste mixture interactions: suppression, additivity, and the predominance of sweetness. *Physiology & Behavior*, 101(5), 731–737.
- Guinard, J.-X., Pangborn, R. M., & Lewis, M. J. (1986). The time-course of astringency in wine upon repeated ingestion. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37(3), 184–189.
- Guyot, S., Marnet, N., Laraba, D., Sanoner, P., & Drilleau, J.-F. (1998). Reversed-phase HPLC following thiolysis for quantitative estimation and characterization of the four main classes of phenolic compounds in different tissue zones of a French cider apple variety (Malus domestica Var. Kermerrien). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1698–1705.
- Ishikawa, T., & Noble, A. C. (1995). Temporal perception of astringency and sweetness in red wine. *Food Quality and Preference*, 6(1), 27–33.
- Keast, R. S. J., & Breslin, P. A. S. (2003). An overview of binary taste–taste interactions. *Food Quality and Preference*, 14(2), 111–124.
- Kelm, M. A., Johnson, J. C., Robbins, R. J., Hammerstone, J. F., & Schmitz, H. H. (2006). High-performance liquid chromatography separation and purification of cacao (Theobroma cacao L.) procyanidins according to degree of polymerization using a diol stationary phase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(5), 1571–1576.
- Kennedy, J. A., & Jones, G. P. (2001). Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4), 1740–1746.
- Le Quééré, J.-M., Husson, F., Renard, C. M. G. C., & Primault, J. (2006). French cider characterization by sensory, technological and chemical evaluations. *LWT – Food Science and Technology*, 39(9), 1033–1044.
- Lea, A. G., & Arnold, G. M. (1978). The phenolics of cider: bitterness and astringency. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29, 478–483.
- Lea, A. G., & Drilleau, J. F. (2003). Cider making. In A. G. Lea, & J. R. Piggott (Eds.), *Fermented beverage production* (pp. 59–87). New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Martin, S., & Pangborn, R. M. (1970). Taste interaction of ethyl alcohol with sweet, salty, sour and bitter compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 21(12), 653–655.
- Noble, A. C. (1994). Bitterness in wine. *Physiology and Behavior*, 56(6), 1251–1255.
- Noble, A. C. (1998). Why do wines taste bitter and feel astringent?. In *Paper presented at the ACS symposium series*.
- Panovska, Z., Sediva, A., Jedelska, M., & Pokorny, J. (2008). Effect of ethanol on interactions of bitter and sweet tastes in aqueous solutions. *Czech Journal of Food Sciences*, 26(2), 139–145.
- Peleg, H., Gacon, K., Schlich, P., & Noble, A. C. (1999). Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(8), 1123–1128.
- Pelletier, C. A., Lawless, H. T., & Horne, J. (2004). Sweet–sour mixture suppression in older and young adults. *Food Quality and Preference*, 15(2), 105–116.
- Pyle, H. (1986). *Effect of ethanol, tartaric acid and sucrose on perceived bitterness of caffeine in model solution*. M.Sc.-thesis. Davis: University of California.
- Robichaud, J. L., & Noble, A. C. (1990). Astringency and bitterness of selected phenolics in wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 53(3), 343–353.
- Scinska, A., Koros, E., Habrat, B., Kukwa, A., Kostowski, W., & Bienkowski, P. (2000). Bitter and sweet components of ethanol taste in humans. *Drug and Alcohol Dependence*, 60(2), 199–206.
- Smith, A. K., June, H., & Noble, A. C. (1996). Effects of viscosity on the bitterness and astringency of grape seed tannin. *Food Quality and Preference*, 7(3–4), 161–166.
- Sowalsky, R. A., & Noble, A. C. (1998). Comparison of the effects of concentration, pH and anion species on astringency and sourness of organic acids. *Chemical Senses*, 23(3), 343–349.
- Symoneaux, R., Baron, A., Marnet, N., Bauduin, R., & Chollet, S. (2014). Impact of apple procyanidins on sensory perception in model cider (part 1): polymerisation degree and concentration. *LWT – Food Science and Technology*, 57(1), 22–27.
- Thorngate, J. H. (1992). *Flavan-3-ols and their polymers in grapes and wines: Chemical and sensory properties*. PhD. Davis: University of California.
- Vidal, S., Courcoux, P., Francis, L., Kwiatkowski, M., Gawel, R., Williams, P., et al. (2004). Use of an experimental design approach for evaluation of key wine components on mouth–feel perception. *Food Quality and Preference*, 15(3), 209–217.

- Vidal, S., Francis, L., Guyot, S., Marnet, N., Kwiatkowski, M., Gawel, R., et al. (2003). The mouth-feel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine-like medium. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(6), 564–573.
- Walters, E. D. (1996). How are bitter and sweet tastes related? *Trends in Food Science & Technology*, 7(12), 399–403.
- Zamora, M. C., Goldner, M. C., & Galmarini, M. V. (2006). Sourness–sweetness interactions in different media: white wine, ethanol and water. *Journal of Sensory Studies*, 21(6), 601–611.
- Zanchi, D., Narayanan, T., Hagenmuller, D., Baron, A., Guyot, S., Cabane, B., et al. (2008). Tannin-assisted aggregation of natively unfolded proteins. *EPL (Europhysics Letters)*, 82(5), 58001.



Contents lists available at ScienceDirect

LWT - Food Science and Technology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/lwt

Prediction of sensory characteristics of cider according to their biochemical composition: Use of a central composite design and external validation by cider professionals



Ronan Symoneaux^{a,*}, Sylvie Chollet^b, Corinne Patron^a, Remi Bauduin^c,
Jean-Michel Le Quéré^d, Alain Baron^d

^a Groupe ESA, UPSP GRAPPE, SFR QUASAV 4207, 55 rue Rabelais, 49007 Angers, France

^b Université Catholique de Lille, Groupe ISA, 48 boulevard Vauban, 59046 Lille, France

^c Institut Français des Productions Cidricoles, Domaine de la Motte, 35650 Le Rheu, France

^d INRA, UR1268 BIA- Polyphenols, Reactivity, Processes, Domaine de la Motte, 35650 Le Rheu, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 24 June 2014

Received in revised form

12 November 2014

Accepted 13 November 2014

Available online 20 November 2014

Keywords:

Procyanidin

Bitterness

Astringency

Flavor

Sensory interaction

ABSTRACT

A large experimental design containing 72 cider-like model solutions was developed in order to evaluate the impact of apple procyanidins, fructose, acid content and ethanol on four sensory attributes: bitterness, astringency, sweetness and sourness. Based on cider composition, this work investigated the linear and quadratic effects of these four quantitative factors and the interactions between them. The results underline the role of procyanidin content (procyanidin profile and concentration) in cider, which highly impacts bitterness and astringency but also affects sweetness and sourness. Using an external validation based on a sensory evaluation by cider professionals, one predictive model for each sensory attribute is proposed.

© 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Cider is a slightly alcoholic beverage resulting from the fermentation of apple juice. Originally processed in several countries in Europe (France, Ireland, Great Britain, Poland, Latvia and Spain), it is now also produced in Argentina, Australia, and South Africa. The main chemical constituents are water, sugar (principally fructose), organic acids, ethanol and polyphenols (Lea & Drilleau, 2003). Mastering the quality and the regularity of production needs a better understanding of the way cider components, notably procyanidins, interact to construct the final flavor of cider (MAIPROCI, 2011). Although the aromatic dimension should not be forgotten, the cider mouthfeel perception results from interactions between these constituents and their effect on sweetness, sourness, bitterness and astringency.

In cider research, very few works have studied the link between chemical composition and mouthfeel perception. Only Lea and

Arnold (1978), Symoneaux, Baron, Marnet, Bauduin, & Chollet (2014) and Symoneaux, Chollet, Bauduin, Le Quéré, and Baron (2014) have evaluated cider with a focus on the effects of procyanidins on these characteristics, working with model solutions. They identified that small procyanidins, notably tetramers and pentamers, were more bitter. They also noticed that the higher the average degree of polymerization (aDP) was, the more astringent the solutions were. Symoneaux, Baron, et al. (2014) also studied the role of procyanidins in sweetness and sourness, demonstrating that only the concentration of procyanidins (not their aDP) impacts these two characteristics, but in a cider-like model solution with a low acid and sugar content. The effect of the average degree of polymerization (aDP) and its interactions with fructose, malic acid and ethanol content in a range of commercial ciders was the main focus of the work done by Symoneaux, Chollet, et al. (2014). They confirmed the positive impact of aDP on astringency and the role of apple procyanidin pentamers in enhancing bitterness in cider without any significant interactions between the polymerization degree and the other constituents. Nevertheless, these two works were carried out using a half fractional design due to the amount of purified procyanidins available. Thus, although the way

* Corresponding author. Tel.: +33 2 41 23 55 55.

E-mail address: r.symoneaux@groupe-esa.com (R. Symoneaux).

procyanidins (concentration and aDP) impacted mouthfeel characteristics could be identified, it was not possible to access all interactions satisfactorily, notably those between other constituents (fructose, ethanol and acid), and to generate generic models adapted for predicting the mouthfeel perception of ciders.

In wine, research on the effects of chemical compounds on organoleptic characteristics is extensive (Arnold, Noble, & Singleton, 1980; Brossaud, Cheynier, & Noble, 2001; Fontoin, Saucier, Teissedre, & Glories, 2008; Robichaud & Noble, 1990; Vidal et al., 2004). However, the composition of wine is quite different from cider with more alcohol, different acid characteristics and different types of procyanidins. For these reasons, it is not possible to generalize results from wine to cider.

Moreover, the influences of constituents are most often studied independently and no study has focused on the effects of the interaction of cider components in mixture formulations through experimental designs and modeling.

Besides, in experimental designs, models are generally validated internally by the calculation of R^2 or by evaluating the lack of fit using a variance analysis approach integrating the replicate central points (Droesbeke, Saporta, & Fine, 1997; Myers, Montgomery, & Anderson-Cook, 2009). Nevertheless, in sensory science, the results could be panel-dependent. In an inter-laboratory comparison, Pagès and Husson (2001) indicated that contradictory conclusions could occasionally be observed between several panels performing descriptive tasks. This point relates to the reproducibility of results discussed in the guidelines for monitoring and assessing the overall performance of a quantitative descriptive panel (ISO, 2012). A good way to assess reproducibility is to ask a second panel to evaluate products coming from the same experimental domain and to check if the predicted values are in accordance with the observed data from the second panel.

The aim of this study was to build predictive models for cider-like model solutions integrating the effects of fructose, acid, ethanol and polyphenol content on bitterness, astringency, sweetness and sourness using a central composite design including interactions and quadratic effects. This design enabled the results from the two previous works done with a half fractional design (Symoneaux, Baron, et al., 2014; Symoneaux, Chollet, et al., 2014) to be challenged and the study of the main effects and interactions not investigated previously with the range of concentrations encountered in French commercial ciders to be completed. The predictive models were validated externally using a different panel composed of cider makers tasting another set of experimental products. The use of professionals for this validation should allow a better generalization of the conclusions.

2. Materials and methods

2.1. Procyanidin extracts

In order to evaluate the impact of procyanidin profile on mouthfeel perception, two fractions of procyanidins were obtained using the following procedure. Five hundred liters of a very bitter and astringent cider containing a high concentration of procyanidins was used for this purpose. Fraction A was directly extracted from 200 L of this cider and Fraction B was extracted from 300 L of this cider previously treated to reduce the high DP procyanidin concentration of the original cider: for this treatment the 300 L cider sample was left for 2 h at 0 °C in contact with apple mash (previously washed with water) using a method derived from previous works (Le Bourvellec, Le Quere, & Renard, 2007).

Then, the polyphenols were extracted from these two samples by adsorption on a food grade column (Amberlite FFX66/Rohm and Haas). After rinsing, the polyphenols were eluted by ethanol 96% vol

and the resulting fractions were then concentrated to remove ethanol and freeze-dried for storage. These extracts were diluted to prepare two mother solutions adjusted to the same procyanidin content. An analysis of the DP profile was done using a method described by Kelm, Johnson, Robbins, Hammerstone, and Schmitz (2006) on a diol stationary phase columns and an UV detector. This method gives a good evaluation of the proportion of each DP but not of the average DP nor the total procyanidins content because of the bad resolution on the higher DP. Total procyanidins and aDP were then quantified following the method described by Guyot, Marnet, Laraba, Sanoner, and Drilleau (1998). As expected the procyanidin profiles of the two fractions obtained were different (Table 1) and the aDP of Fraction A coming from the original cider was significantly higher than that of B due to a higher proportion of procyanidins with a polymerization degree greater than 4.

2.2. Experimental design and model solutions

An experimental design with 5 factors (procyanidin fraction, procyanidin concentration, fructose, malic acid (and pH) and ethanol content) was built. The first factor had 2 levels corresponding to the two fractions obtained, A (coded 1) and B (coded -1). The effect of the four other quantitative factors, with five levels each (-2, -1, 0, 1, 2), was arranged following a central composite design. It resulted in seventy-two samples including twelve replicates of the central point for each fraction as recommended by Cliquet, Durier, and Kobilinski (1993) in order to evaluate the direct effects of the five factors and the interactions between them and the quadratic effects of the quantitative ones. These replicates enabled the isovariant by rotation and the orthogonal properties of the design to be conserved.

The concentration ranges were chosen to include the compositions of French commercial ciders (database studied in Le Quéré, Husson, Renard, & Primault, 2006) and were previously studied by Symoneaux, Chollet, et al. (2014): polyphenols (0, 375, 750, 1125, 1500 mg/L), fructose (0, 20, 40, 60, 80 g/L), malic acid (2.43, 3.3, 4.17, 5.04, 5.91 g/L) being linked to pH by adjusting respectively pH to 4.17, 3.94, 3.71, 3.48 and 3.25, and ethanol (1.2, 2.7, 4.2, 5, 7.2% vol.).

For the external validation by the second panel, thirty model solutions were prepared with a 50/50% blend of fractions A and B. They were selected to cover the main variations in bitterness, sweetness and astringency. This validation was performed simultaneously with a training course about mouthfeel modulation in cider.

Table 1

Procyanidin content of the two polyphenol fractions after dilution in order to have the same procyanidin content. Procyanidin content and aDP was calculated from the method described by Guyot et al. (1998). The concentration of each DP was calculated using the proportion of each DP obtained by the method developed in Kelm et al. (2006). SD: pooled standard deviation calculated according to Box, Hunter, and Hunter (1978).

Mother solution used	Mother solution used			
	DP	Fraction A	Fraction B	SD
Concentration of each DP (mg/L)	2	7.59	9.25	0.04
	3	5.80	6.24	0.03
	4	5.01	4.86	0.04
	5	4.02	3.82	0.04
	6	2.90	2.55	0.02
	7	2.16	1.71	0.05
	8	1.41	0.89	0.03
	9	0.80	0.50	0.04
	10	0.31	0.18	0.02
	Procyanidin content (mg/L)	30.00	30.00	
aDP		3.22	2.99	

DP: degree of polymerization; aDP: average degree of polymerization.

Table 2
References used during training.

	Fructose (g/L)	Malic acid (g/L)	pH	Ethanol (% vol)	Procyanidin concentration (mg/L)
Low sweetness	0	4.17	4.2	4.2	750
Low sourness	40	2.43	4.17	4.2	750
Low bitterness	40	4.17	4.2	4.2	0
Low astringency	40	4.17	4.2	4.2	1500
High sweetness	80	4.17	4.2	4.2	750
High sourness	40	5.91	3.25	4.2	750
High bitterness	40	4.17	4.2	4.2	1500
High astringency	20	5.04	3.48	2.7	1125

2.3. Sensory evaluation by a trained panel and a panel of cider professionals

The trained panel of eighteen panelists was trained for 30 h on the sensory evaluation of a model cider solution (Symoneaux, Chollet, et al., 2014). During the training sessions, they worked with references for each attribute containing a blend of the two fractions A and B with the concentrations presented in Table 2.

They evaluated the 72 samples from the experimental design during eight sessions under standard sensory conditions (AFNOR, 1994). Samples were presented in a sequential monadic way and their order was based on a Williams Latin-square arrangement. Scores for the four attributes (sour, sweet, bitter and astringent) were collected on a 14-cm linear scale by FIZZ (version 2.10; Biosystems, Courtenon, France).

The performance of the panel (discrimination, repeatability and agreement) was checked using the results of the present experiment. The panel was able to differentiate highly the products ($p < 0.0001$), the results were repeatable with a standard deviation for the 2×12 replicates of around 0.45 (Table 3) and the agreement between panelists was correct (data not shown).

For the external validation of the predictive models obtained from the experimental design, a panel independent of the previous one was used. It was composed of 34 cider professionals who had worked from 5 to 30 years in this field as producers, enologists, and technicians. They were trained for 1 h at the beginning of the session in basic taste and astringency recognition in water using the same molecules and concentrations as the sensory panel (Symoneaux, Baron, et al., 2014a; Symoneaux, Chollet, et al., 2014) and they were presented with the eight references corresponding to the scale extremities of the four attributes (Table 2).

Thirty samples were evaluated different from those used in the experimental design and varying mainly in ethanol, fructose and polyphenol concentration. Professionals were asked to score the four sensory attributes on 11-point structured scales anchored by “not at all” to “very intense” and transformed into marks from 0 to 10.

In both panels, the panelists were informed about the products (procyanidins in a model solution) they had to evaluate and they gave their informed consent.

2.4. Statistical analysis

The data were analyzed using Statgraphics Centurion XVI (Version 16.1.18, StatPoint Technologies, Inc.). The polynomial used to fit the model is given in Eq. (1).

Table 3
Standard deviation for the 12 replicates of the central point for both fractions.

	Sweetness	Sourness	Bitterness	Astringency
Fraction A	0.456	0.444	0.511	0.481
Fraction B	0.380	0.468	0.425	0.518

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^5 \beta_i \chi_i + \sum_{i=2}^5 \beta_{ii} \chi_i^2 + \sum_{i=1}^5 \sum_{j=1}^5 \beta_{ij} \chi_i \chi_j + \varepsilon \quad (1)$$

where y represents the response variables (sweetness, sourness, bitterness and astringency), χ_1 is the fraction of procyanidins used in the model solution (A or B), χ_2 is the concentration of fructose, χ_3 is the concentration of malic acid, χ_4 is the concentration of ethanol and χ_5 is the concentration of procyanidins, β_0 is a constant, β_i represents the linear terms, β_{ii} are the quadratic terms, β_{ij} represents the interaction terms and ε is the random error. The significance of all the terms in the polynomial equation and the goodness of fit of the model evaluated by the coefficient determination (R^2) were judged statistically by using the analysis of variance (ANOVA) approach. A significance level of 5% was adopted in the standard error analysis.

For the external validation of the models, predicted values of the sensory scores were calculated from the model for the thirty evaluated samples and they were crossed with the observed average data of the professional panel. Correlation coefficients and root mean square errors of prediction (RMSEP) were calculated as validation values of the predictive models.

3. Results and discussion

3.1. Impact of each component on the studied sensory characteristics

Fig. 1 represents the Pareto diagrams obtained from the experimental design. It shows the standardized weight and the direction of each factor and interaction on each evaluated sensory attribute.

First, procyanidins (fraction and/or concentration) greatly impacted bitterness, astringency, sweetness and sourness. The Pareto diagrams (Fig. 1a and b) indicated a significant negative fraction effect χ_1 on bitterness and a positive one in the case of astringency. Fraction A, which had a higher average degree of polymerization, was significantly less bitter and more astringent than the products formulated with Fraction B. This increase in astringency depending on the DP has been observed in cider and wine (Lea & Arnold, 1978; Peleg, Gacon, Schlich, & Noble, 1999). The higher proportion of dimers and trimers in Fraction B could be the source of bitterness as observed in wine. Nevertheless, Symoneaux, Baron, et al. (2014) and Symoneaux, Chollet, et al. (2014) showed that a higher bitterness was obtained for tetramers and pentamers in solutions using apple procyanidins. As Fraction B was obtained by a process leading to a greater oxidation of procyanidins, it may contain a higher proportion of oxidized procyanidins that are not detectable by the HPLC procedure used. This would lead to an underestimation of the small DP in this fraction, which could impact the bitterness of samples.

In the present study, the type of fraction used had a slight impact on sweetness (Fig. 1c) with Fraction B being less sweet than Fraction A. This result contradicts the conclusions of Symoneaux, Baron, et al. (2014) and Symoneaux, Chollet, et al. (2014) that DP does not influence this characteristic. In fact, working in the range of concentration encountered in cider modifies the way the sweetness–bitterness interaction occurs in cider. The modulation of sweetness by bitterness due to the profile of procyanidins is more efficient with more fructose and a high concentration of procyanidins in the solution. In the samples studied by Symoneaux, Baron, et al. (2014), the fructose content was low (8.3 g/L) and in both studies, the maximum procyanidin concentration tested was 750 mg/L. At these concentrations, it appeared that the influence of the procyanidin profile was not high enough to modify the sweetness perception. The procyanidin profile impacts the

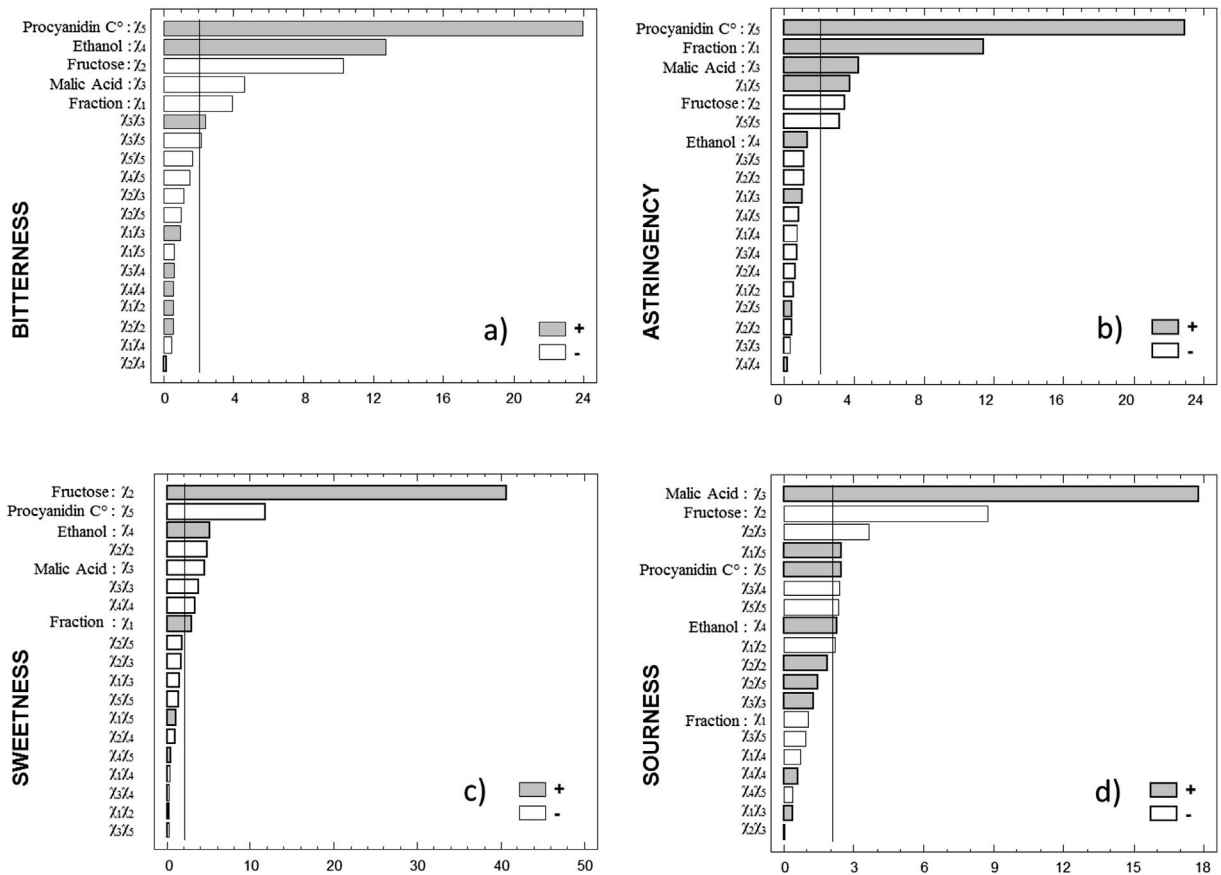


Fig. 1. Pareto charts showing the standardized effects of procyanidin fraction and concentration, fructose, acidity, ethanol content and interactions on (a) bitterness, (b) astringency, (c) sweetness, and (d) sourness. The color of the bar shows whether the effect is positive (gray) or negative (white) on the studied attribute. The vertical line indicates the lower limit of significance of the effects at a level of 5%.

perceived sweetness at high procyanidin concentrations above 750 mg/L.

Independently of the type of procyanidins, the concentration of procyanidins χ_5 impacted the four attributes. The increase in bitterness and astringency (Fig. 1a and b) has been observed many times (Arnold & Noble, 1978; Lea & Arnold, 1978; Robichaud & Noble, 1990) but the increase in procyanidin concentration, as shown in Fig. 1c and d, also decreased sweetness and slightly increased sourness perception. At the same time, it is interesting to note an interaction between the fraction and procyanidin concentration for astringency and sourness. This interaction was observed for the first time by Symoneaux, Baron, et al. (2014) in model solutions with purified procyanidins. The present result confirms that the difference in astringency between low and high concentrations of small DP is smaller than that observed for low and high concentrations of high DP.

In addition to the primary effect of procyanidin concentration, the presence of ethanol χ_4 significantly increased the perception of bitterness while the presence of acid χ_3 and fructose χ_2 decreased it (Fig. 1a). Although these effects appear statistically as main effects, they are likely to be explained largely by the interaction between these factors and procyanidins: alcohol is known to promote the access of procyanidins to bitterness receptors (Chialva & Dada, 1990) while sugar and acid reduce bitterness, as observed in a model water solution by Brannan et al. (Brannan, Setser, & Kemp, 2001). Moreover, the impact of acid content was higher for high procyanidin concentrations. Nevertheless, procyanidin concentration was mainly responsible for the bitter sensations.

The astringency sensation was mainly due to procyanidins (χ_1 and χ_5), concentration and fraction (Fig. 1b), but fructose and acidity also interacted to a lesser extent. Procyanidin concentration presented quadratic effects. When the model cider solution had a high procyanidin content, the increase was smaller than for a low concentration. This phenomenon is probably due to a psychophysical effect, by which tasters were close to saturation and perceived samples as very astringent but they found fewer differences between samples of high concentration. Acid content slightly increased astringency while fructose reduced it. In contrast to the wine literature (Fontoin et al., 2008), in the present study, ethanol had no impact on astringency, probably due to the low level of alcohol compared to that found in wine.

Sweetness (Fig. 1c) was logically dependent on fructose content χ_2 and decreased when acidity χ_3 and procyanidin content χ_4 increased. Ethanol also increased the sweet sensation. The procyanidin profile of the two fractions, modified sweetness to a lesser extent. The quadratic effects observed for fructose, acid and ethanol were the results of a nonlinear evolution depending on their respective concentrations.

The perceived sourness (Fig. 1d) was dependent not only on acid content but also on fructose, ethanol and procyanidin concentrations. Fructose decreased sourness but with a significant interaction between fructose and acid content ($\chi_2\chi_3$): the decrease in sourness due to fructose was larger for the highest acidity (5.04 g/L and pH = 3.43). Ethanol presented a slight increasing effect on sourness, which was only significant at low acidity. This result is in accordance with Zamora, Goldner, and Galmarini (2006) who

Table 4
Coefficients of the predictive models for bitterness, astringency, sweetness and sourness and calculated R^2 .

	Constant	X_1 Fraction	X_2 Fructose (g/L)	X_3 Malic acid (g/L)	X_4 Ethanol (% vol)	X_5 Procyanidin conc. (mg/L)	X_1X_2	X_1X_5	X_2X_2	X_2X_3	X_3X_3	X_3X_4	X_3X_5	X_4X_4	X_5X_5	R^2
Bitterness	3.2412	-0.2139	-0.0349	-1.4808	0.5738	0.0066					0.1835		-0.0005			0.947
Astringency	-0.6371	0.1244	-0.0125	0.3515		0.0065		0.0007							-1.41E-06	0.935
Sweetness	-4.8052	0.1483	0.1738	1.8674	0.8620	-0.0019			-0.0006		-0.2613			-0.0779		0.945
Sourness	-6.5051	-0.0933	0.0422	2.6459	0.7149	0.0019	-0.0073	0.0004		-0.0170		-0.1477			-9.45E-07	0.889

observed the same behavior in wine for a low acidic solution but only when ethanol content rose from 4 to 14%. The present study indicates that, in cider, the smaller modulation of ethanol could modify the sourness of ciders with a low acid content and higher pH.

As mentioned previously, procyanidin concentrations modified sourness by reinforcement when polyphenol concentration increased. However, the procyanidin fraction characteristics appeared to modify slightly the impact of procyanidin concentration and of fructose on sourness. The decrease in sourness due to fructose was greater for Fraction B generating a significant interaction $\chi_1\chi_2$. Simultaneously, the increase in the perceived sourness by polyphenol concentration was only observed for this fraction (data not shown) creating a second significant interaction $\chi_1\chi_5$. Symoneaux, Baron, et al. (2014) observed this impact of procyanidin concentration and fructose on sourness but without a significant interaction with the DP fractions studied. Nevertheless, the bitterest fraction was the sourest for high concentration of procyanidin but in a model solution with a low level of acidity, ethanol and fructose. In the present work, the impact of the variation of fructose and procyanidin concentration on sourness was greater for the bitterest fraction. This could be due to bitter–sour interactions as observed in water in which citric acid perception was increased by the presence of caffeine (Kamen, Pilgrim, Gutman, & Kroll, 1961). In cider, the perception of acidity is a complex combination led by acid content but modulated by fructose, ethanol and procyanidin content in interaction with the amount of bitterness, thus depending on the procyanidin content and DP profile of the cider.

3.2. Calculation of predictive models

From this experiment, four models were built in order to predict the sweetness, sourness, bitterness and astringency of a solution based on the real value of each component concentration (Table 4). χ_1 being a qualitative factor remains coded A: 1 and B: -1. Only coefficients that were significant are presented. The R^2 coefficient is close to 1 for each predictive model, indicating that the model explained a large part of the variability of the experimental data.

3.3. External validation by a panel of professionals

Scores of the thirty-four professionals for each attribute were averaged per sample and then compared to the theoretical values obtained from the predictive model. Fig. 2 presents the four graphs linking the predicted values from the models as a function of the average data obtained by the professional panel. R^2 and Root Mean Square Error of Prediction (RMSEP) are presented on each graph.

For bitterness, sweetness and astringency, the R^2 coefficient of the predicted data provided by the model and the average value from the professional panel was very high and significant (P -value < 0.0001). This result indicates a good correlation of the three predictive models. Nevertheless, these results should be relativized a little since the RMSEP is close to 1 for sweetness and bitterness. The results are better for astringency. This could be explained by the greater simplicity of the model, with only a direct effect and a quadratic effect for the main component, while for sweetness and bitterness, there are some interactions between the components and/or several quadratic effects at the same time, making the perception mechanism more complex.

The correlation coefficient R^2 for sourness was lower but significant (P -value = 0.0017) and the RMSEP was 0.97. It can be seen that the range of variation for the theoretical values is smaller than for the majority of the tasted samples (with a predicted sourness between 2.5 and 3.5), which could explain the lack of fit for this attributes. In fact, it was decided to present a large variation in

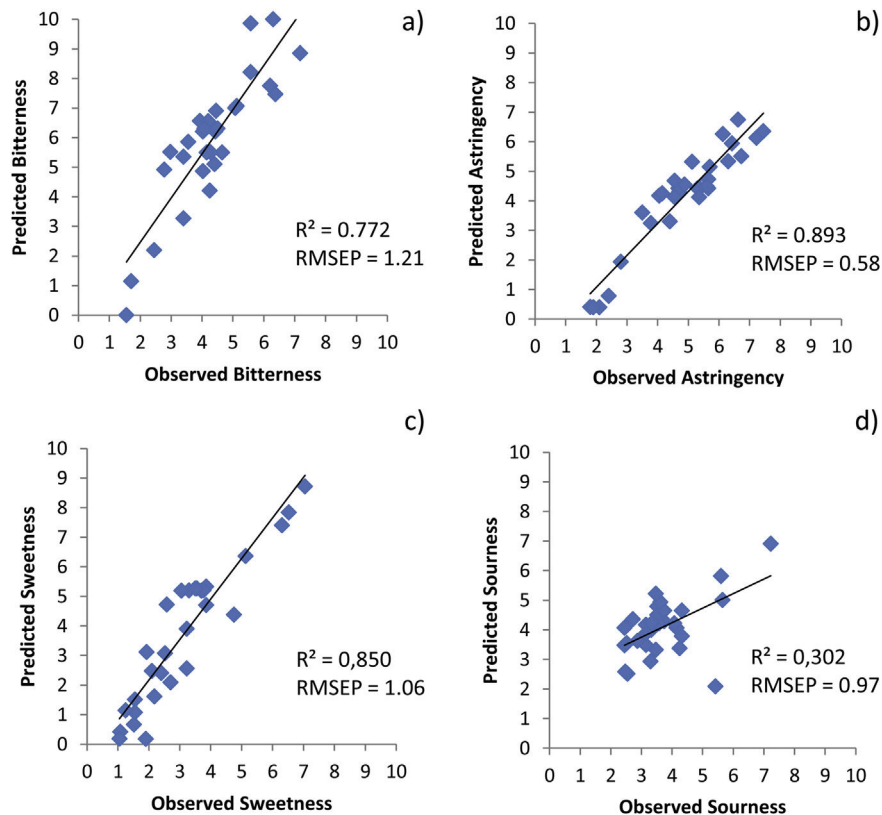


Fig. 2. Predicted values from models as a function of the averaged observed data from the professional panel for (a) bitterness, (b) astringency, (c) sweetness, and (d) sourness.

terms of fructose, alcohol and polyphenol content, which meant that 2/3 of the tasted samples had the same acid content (3.3 g/L malic acid and pH of 3.94). Therefore, the variation in acidity was not large enough to validate the predictive model definitively.

4. Conclusion

The use of an experimental design enabled models to be built integrating the main components of cider (fructose, malic acid, ethanol, type and quantity of procyanidins) in cider-like model solutions. These models indicate how much each component impacts the main sensory characteristics (bitterness, sweetness, sourness and astringency) and can predict the organoleptic properties of ciders based on their compositions.

The external validation confirmed the models in terms of astringency, sweetness and bitterness. Complementary samples need to be tested to validate the model for sourness. The use of a second panel composed of professionals is an interesting strategy to validate a statistical model objectively. Being based on model solutions, these predictive models now have to be validated using commercial cider. The experimental domain focused on the chemical ranges encountered in French ciders. The results could be extended to ciders from other countries but with some precautions when chemical contents exceed the ranges studied in the present experiment, notably for cider with a high ethanol content. Besides, these models would have to be improved by integrating other parameters, such as the role of CO₂, aromatic profile or acid composition.

Acknowledgments

This work was carried out with support from the Region Bretagne and the Region Pays de la Loire. The authors wish to thank all

the panelists and cider professionals for their motivation in such experimental work, Jérôme Pages and Philippe Courcoux for their valuable advice about the experimental design and statistical analysis and Sylvain Hingant and Séverine Ollivier for the samples preparation.

References

- AFNOR. (1994). *Analyse sensorielle – Guide général pour sélection, l'entraînement et le contrôle des sujet – Partie 2 : experts*. NF ISO 8586-2: 1994 (Indice de classement: V09-0033-2).
- Arnold, R. A., & Noble, A. C. (1978). Bitterness and astringency of grape seed phenolics in a model wine solution. *American Journal of Enology and Viticulture*, 29(3), 150–152.
- Arnold, R. A., Noble, A. C., & Singleton, V. L. (1980). Bitterness and astringency of phenolic fractions in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(3), 675–678.
- Box, G. E., Hunter, W. G., & Hunter, J. S. (1978). *Statistics for experimenters*. New York: John Wiley and Sons.
- Brannan, G. D., Setser, C. S., & Kemp, K. E. (2001). Interaction of astringency and taste characteristics. *Journal of Sensory Studies*, 16(2), 179–197. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-459X.2001.tb00295.x>.
- Brossaud, F., Cheynier, V., & Noble, A. C. (2001). Bitterness and astringency of grape and wine polyphenols. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7(1), 33–39.
- Chialva, F., & Dada, G. (1990). Bitterness in alcoholic beverages. *Developments in Food Science*, 25, 103–122.
- Cliquet, S., Durier, C., & Kobilinski, A. (1993). La planification expérimentale: exemples de plans d'expériences pour l'optimisation de la production de *Bradyrhizobium japonicum*. *Cahier des Techniques de l'Inra*, 32, 47–68.
- Droesbeke, J.-J., Saporta, G., & Fine, J. (1997). *Plans d'expériences : Applications à l'entreprise*. Paris: Editions Technip.
- Fontoin, H., Saucier, C., Teissedre, P.-L., & Glories, Y. (2008). Effect of pH, ethanol and acidity on astringency and bitterness of grape seed tannin oligomers in model wine solution. *Food Quality and Preference*, 19(3), 286–291.
- Guyot, S., Marnet, N., Laraba, D., Sanoner, P., & Drilleau, J.-F. (1998). Reversed-phase HPLC following thiolysis for quantitative estimation and characterization of the four main classes of phenolic compounds in different tissue zones of a french cider apple variety (*Malus domestica* Var. Kermerrien). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1698–1705.

- ISO. (2012). *ISO 11132:2012 Sensory analysis — Methodology — Guidelines for monitoring the performance of a quantitative sensory panel*.
- Kamen, J. M., Pilgrim, F. J., Gutman, N. J., & Kroll, B. J. (1961). Interactions of suprathreshold taste stimuli. *Journal of experimental psychology*, 62(4), 348.
- Kelm, M. A., Johnson, J. C., Robbins, R. J., Hammerstone, J. F., & Schmitz, H. H. (2006). High-performance liquid chromatography separation and purification of Cacao (*Theobroma cacao* L.) procyanidins according to degree of polymerization using a diol stationary phase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(5), 1571–1576.
- Le Bourvellec, C., Le Quere, J.-M., & Renard, C. M. G. C. (2007). Impact of noncovalent interactions between apple condensed tannins and cell walls on their transfer from fruit to juice: studies in model suspensions and application. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19), 7896–7904. <http://dx.doi.org/10.1021/jf071515d>.
- Le Quéré, J.-M., Husson, F., Renard, C. M. G. C., & Primault, J. (2006). French cider characterization by sensory, technological and chemical evaluations. *LWT — Food Science and Technology*, 39(9), 1033–1044.
- Lea, A. G., & Arnold, G. M. (1978). The phenolics of cider: bitterness and astringency. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29, 478–483.
- Lea, A. G., & Drilleau, J. F. (2003). Cidermaking. In A. G. Lea, & J. R. Piggott (Eds.), *Fermented beverage production* (pp. 59–87). New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- MAIPROCI. (2011). *Maitrise des Procédés Cidricoles: Financée par les régions Pays de la Loire, Bretagne, Basse Normandie*.
- Myers, R. H., Montgomery, D. C., & Anderson-Cook, C. M. (2009). *Response surface methodology: Process and product optimization using designed experiments* (Vol. 705). John Wiley & Sons.
- Pagès, J., & Husson, F. (2001). Inter-laboratory comparison of sensory profiles: methodology and results. *Food Quality and Preference*, 12(5–7), 297–309. [http://dx.doi.org/10.1016/S0950-3293\(01\)00015-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0950-3293(01)00015-5).
- Peleg, H., Gacon, K., Schlich, P., & Noble, A. C. (1999). Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(8), 1123–1128.
- Robichaud, J. L., & Noble, A. C. (1990). Astringency and bitterness of selected phenolics in wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 53(3), 343–353.
- Symoneaux, R., Baron, A., Marnet, N., Bauduin, R., & Chollet, S. (2014). Impact of apple procyanidins on sensory perception in model cider (part 1): polymerisation degree and concentration. *LWT — Food Science and Technology*, 57(1), 22–27. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.11.016>.
- Symoneaux, R., Chollet, S., Bauduin, R., Le Quéré, J. M., & Baron, A. (2014). Impact of apple procyanidins on sensory perception in model cider (part 2): degree of polymerization and interactions with the matrix components. *LWT — Food Science and Technology*, 57(1), 28–34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.01.007>.
- Vidal, S., Courcoux, P., Francis, L., Kwiatkowski, M., Gawel, R., Williams, P., et al. (2004). Use of an experimental design approach for evaluation of key wine components on mouth-feel perception. *Food Quality and Preference*, 15(3), 209–217.
- Zamora, M. C., Goldner, M. C., & Galmarini, M. V. (2006). Sourness–sweetness interactions in different media: white wine, ethanol and water. *Journal of Sensory Studies*, 21(6), 601–611.

Les Polyphénols de la Pomme aux Cidres : diversité variétale et procédés, facteurs clé de la modulation des saveurs et des couleurs

Guyot S.^{1,4}, Symoneaux R.², Le Quéré J.-M.^{1,4}, Bauduin R.^{3,4}

¹ INRA, UR-1268 BIA, Equipe PRP, F-35653 Le Rheu Cedex

² Groupe ESA, UPSP GRAPPE, SFR QUASAV 4207, 55 rue Rabelais, F-49007 Angers

³ Institut Français des Productions Cidricoles, Domaine de la Motte, F-35650 Le Rheu

⁴ UMT Novacidre, Domaine de la Motte, F-35650 Le Rheu

Correspondance : sylvain.guyot@rennes.inra.fr

Résumé

Le cidre français est élaboré à partir variétés de pommes qui se distinguent notamment des pommes de table par leur richesse en composés phénoliques répartis en plusieurs catégories en proportions variables et avec des propriétés bien spécifiques. En étant concrètement impliqués dans les saveurs, la couleur et la stabilité colloïdale, ces polyphénols et leur diversité variétale sont un atout incontestable que les producteurs de cidre peuvent utiliser pour diversifier la gamme des produits qu'ils proposent et améliorer leur attractivité en lien avec les préférences actuelles des consommateurs. Le cidre rosé élaboré à partir de variétés de pomme à chair rouge est un exemple de produit qui plait actuellement. Les producteurs disposent aussi de moyens technologiques efficaces pour moduler de façon sélective les teneurs en telles ou telles catégories de polyphénols responsables des saveurs et des couleurs. Variabilité génétique, diversité structurale, réactivité biochimique et chimique vis-à-vis de l'oxydation, capacité d'association avec protéines et polysaccharides, perceptions de l'amertume et de l'astringence et impact des procédés cidricoles sont autant d'éléments impliquant les composés phénoliques qui sont discutés dans cet article de façon synthétique.

Mots-clés: composés phénoliques, tanins, oxydation, polysaccharides, qualités organoleptiques.

Abstract: Apple polyphenols: varietal diversity and processing as key factors to modulate flavors and colors of French ciders

The French cider is made from apple varieties that are clearly distinguished from dessert apples on the basis of their high concentration in phenolic compounds which are distributed into several classes with varying proportions and with very specific properties. Being concretely involved in the flavours, colour and colloidal stability, these polyphenols and their varietal diversity are an undeniable asset that cider producers can use to diversify the range of products they offer and improve their attractiveness in relation to the current consumer preferences. The Rosé cider made from red-fleshed apple varieties is an example of a product that now appeals to the consumers. Producers can also use effective technologies to selectively modulate the levels of such and such classes of polyphenols responsible for flavours and colours. Genetic variability, structural diversity, biochemical and chemical reactivity related to the oxidation capacity and association with proteins and polysaccharides, perceptions of bitterness and astringency and impact of cider processes are all issues involving the phenolic compounds which are discussed in this review article.

Keywords: phenolic compounds, tannins, oxidation, polysaccharides, organoleptic properties

Introduction

Le cidre français est produit par une filière modeste mais dynamique qui élabore également, à partir des mêmes matières premières, d'autres boissons alcoolisées issues du cidre comme les eaux de vie et pommeaux ainsi que des jus de pommes et des concentrés de jus de pommes. La production de cidre, stabilisée aux environs d'un million d'hectolitres par an depuis de nombreuses années, tend à augmenter légèrement actuellement mais surtout à se diversifier vers des produits mieux valorisés avec une baisse des produits bas de gamme en faveur des produits de qualité. Depuis quelques années, la production de produits nouveaux comme le cidre rosé contribue à dynamiser les ventes et à renouveler l'image du cidre. Dans un contexte où l'ensemble des boissons alcoolisées baissent de façon conséquente, cette progression en volume et surtout en chiffre d'affaire est à considérer avec optimisme. Les raisons de ce maintien relatif du cidre sont probablement très diverses : on peut proposer des raisons sociétales, d'image, de composition.

Tout d'abord, le niveau de la consommation française de cidre est bas en moyenne et les régions cidricoles représentent une large part de la consommation, part qui est sans doute plus stable car moins sujette aux modes. Mais, surtout, on peut considérer qu'aujourd'hui le cidre dispose de réels atouts pour se développer. Le contexte législatif actuel qui cherche à réduire fortement la consommation d'alcool par des interdictions diverses, pourrait bénéficier au cidre car les produits concurrents comme la bière sont moins présents dans la publicité mais aussi parce que sa plus faible teneur en alcool pourrait faire préférer le cidre au vin dans certaines circonstances où une alcoolémie élevée est inacceptable. Conjointement, la présence de sucre résiduel contribuerait également à faire apprécier le cidre par les jeunes générations habituées à la consommation de sodas.

De plus, le cidre a gardé une image de produit authentique, « naturel » qui est appréciée par beaucoup de consommateurs. La réalité est d'ailleurs relativement conforme à cette image puisque la matière première, produite spécifiquement pour la transformation, est rustique et nécessite peu d'intrants : contrairement aux pommes de table qui sont conservées après récolte et doivent être exemptes de défauts « esthétiques », les fruits à transformer peuvent supporter une pression de ravageurs plus élevée. En conséquence, même en agriculture conventionnelle, le nombre de traitements phytosanitaires est nettement plus faible qu'en arboriculture classique. La transformation est, elle-même, faible consommatrice en intrants car aucun conservateur, colorant ou adjuvant de fabrication n'est vraiment indispensable. Seuls le SO₂ et, parfois l'acide ascorbique (vitamine C) sont utilisés couramment, principalement pour réduire l'oxydation, mais à des concentrations plus faibles qu'en œnologie. Des protéines comme la gélatine peuvent également être utilisées comme adjuvant de clarification et parfois du caramel ou des anthocyanes pour accentuer la couleur mais ces traitements restent peu impactants sur l'image des produits.

Une des particularités fortes du cidre français est, sans conteste, sa richesse en polyphénols. Cette caractéristique peut être considérée comme un atout pour le cidre car ces composés font partie des constituants végétaux auxquels il a été attribué des propriétés vis-à-vis de la santé. Ainsi, l'apport des polyphénols dans l'alimentation constitue une des hypothèses pour expliquer le « French paradox » (de Lorgeril et al., 2002 ; Cooper et al., 2004) par un effet de prévention contre les maladies cardiovasculaires. De même, leur effet antioxydant au sens large fait supposer également un rôle préventif d'une alimentation plus riche en polyphénols vis-à-vis du développement de certains cancers (Bagchi et al., 2014). Si la réalité de ces effets et leurs mécanismes ne sont pas définitivement établis actuellement, on peut dire que les cidres contribuent, comme les vins, à l'apport de nutriments non essentiels d'origine végétale (dont les polyphénols mais aussi le potassium) pour une alimentation diversifiée.

Outre leurs possibles «bénéfices santé», les composés phénoliques sont d'abord et de longue date particulièrement importants pour la filière car ils interviennent directement et fortement sur les caractéristiques sensorielles des produits. Leurs effets sensoriels directs sont principalement

l'amertume, l'astringence et la couleur mais il faut aussi signaler leur rôle très probable sur la formation de trouble post-clarification lors de la conservation en bouteille. Les polyphénols sont en réalité une famille de composés de structures diverses dont dépendent leurs propriétés et la grande diversité des variétés de pommes à cidre peut être mise à profit pour élaborer des produits typés. On peut citer en exemple, les cidres *Guillevic* de couleur jaune pâle, les cidres amertumés plus riches en tanins, et plus récemment les cidres rosés élaborés en partie avec des variétés de pommes à chair rouge. Cependant les conditions d'extraction ainsi que les opérations de traitement des moûts et des cidres peuvent modifier sensiblement ce potentiel polyphénolique apporté par la matière première.

Dans cet article, nous décrivons d'abord les différentes classes de polyphénols présentes dans les pommes ainsi que leurs structures en précisant le niveau de variabilité des pommes à cidre vis-à-vis de ces composés. Puis, nous détaillerons leurs propriétés parmi lesquelles leur propension à s'oxyder sous l'action de la polyphenoloxydase (PPO) et la capacité de certains à précipiter les protéines et à interagir avec les polysaccharides pariétaux. De leurs propriétés bien particulières découle également l'impact des procédés sur le devenir des polyphénols au cours de l'élaboration des cidres. Enfin, les propriétés optiques et gustatives de certains composés sont essentielles pour le cidrier car elles constituent une partie importante des caractéristiques sensorielles des cidres.

1. Les polyphénols de la pomme, une multiplicité de structures (catégories de polyphénols) portée par la diversité variétale

1.1. Le lien «historique» entre catégories de saveurs et polyphénols des pommes à cidre

La contribution essentielle des polyphénols de la pomme à la qualité des cidres n'est pas chose nouvellement connue. Déjà au 16^{ième} siècle, Julien Le Paulmier dans son ouvrage « *De Vino et Pomaceo* » soulignait l'importance de mélanger des variétés douces et des variétés amères pour obtenir un « bon cidre » sans savoir à l'époque que les composants du fruit responsables de l'amertume étaient en fait les polyphénols (Travers, 1896). Ce n'est qu'en 1959 qu'un véritable classement des variétés de pommes à cidre françaises a été réalisé sur la base de deux critères biochimiques des moûts : l'acidité totale exprimée en milliéquivalent par litre et la teneur en « tanins totaux » exprimée en gramme par litre de moûts (Tavernier et Jacquin, 1949). Le terme de « tanins totaux » est alors imparfaitement utilisé pour désigner la totalité des polyphénols. On lui préférera le terme de « polyphénols totaux » ou « composés phénoliques totaux ». Sur ces bases, on distingue ainsi les pommes aigres et acidulées donnant des moûts peu concentrés en polyphénols et des pommes douces-amères ou amères, ces dernières étant parfois très riches en polyphénols (Tableau 1).

Tableau 1 : Classification des principales variétés de pommes à cidres sur critères biochimiques des moûts

Catégories de saveurs	Acidité (meq.l ⁻¹)	Tanins* (g.l ⁻¹)
Douce	A < 60	T < 2
Douce-amère	A < 60	2 < T < 3
Amère	A < 60	T > 3
Acidulée	60 < A < 90	T < 2
Aigre	A > 90	T < 2

* Le terme « tanin » correspond ici (improprement) à l'ensemble des composés phénoliques dosés par la méthode de Folin-Ciocalteu sans distinction des différentes catégories de polyphénols.

Ce classement est toujours utilisé mais la connaissance fine et détaillée des polyphénols des pommes à cidre s'est beaucoup enrichie ces vingt dernières années notamment par le développement des

méthodes de chimie séparatives telles que la HPLC, et plus récemment l'UHPLC couplées à des techniques de détection performantes comme la spectrométrie UV-visible et la spectrométrie de masse. Ainsi, le terme polyphénols se décline en plusieurs sous-classes de composés phénoliques ayant des structures moléculaires très variées avec, en conséquence, des contributions franchement différentes à la qualité des cidres. Et nous verrons que les nombreuses variétés de pommes à cidre présentent une large diversité pour leur composition polyphénolique (voir paragraphe 1.3).

1.2. Les différentes catégories de polyphénols de la pomme.

On distingue six catégories de composés phénoliques dans la pomme (Figure 1). Trois d'entre-elles, les acides hydroxycinnamiques, les catéchines et les procyanidines (dénommées « tanins condensés » dans leurs formes polymérisées) représentent en moyenne plus de 90 % des polyphénols du fruit et sont présentes dans tous les tissus (peau, pulpe et pépins) (Guyot, et al., 1998). Les trois autres catégories, dihydrochalcones, flavonols et anthocyanes, sont le plus souvent en quantités mineures dans le fruit mais se révèlent parfois essentielles en contribuant à certaines caractéristiques organoleptiques de cidres particuliers ou peuvent faire l'objet de valorisation par leur présence plus concentrée dans les marcs de pomme. Sans faire une revue exhaustive des structures moléculaires phénoliques de la pomme à cidre, soulignons simplement leur grande diversité structurale. Ainsi, la masse moléculaire varie de quelques centaines de daltons pour les acides hydroxycinnamiques et les flavonoïdes jusqu'à plusieurs dizaines de milliers de daltons pour certaines formes de tanins très polymérisées (Guyot, et al., 2001a). Les structures varient également par le nombre de fonctions phénols et par l'absence ou la présence de substituants non phénoliques. Ainsi, contrairement aux catéchines et procyanidines qui sont des molécules purement phénoliques, flavonols, dihydrochalcones et anthocyanes sont toujours glycosylés tandis que les acides hydroxycinnamiques sont substitués par l'acide quinique. Tous ces critères structuraux ont leur importance pour rendre compte de leurs propriétés. En particulier, le degré de polymérisation des tanins (nombre d'unités catéchines constitutives de la molécule de tanin) est déterminant dans leur capacité d'association avec polysaccharides et protéines avec des conséquences directes sur les critères organoleptiques des produits finis. Ces aspects seront évoqués plus en détail aux paragraphes 3 et 5.

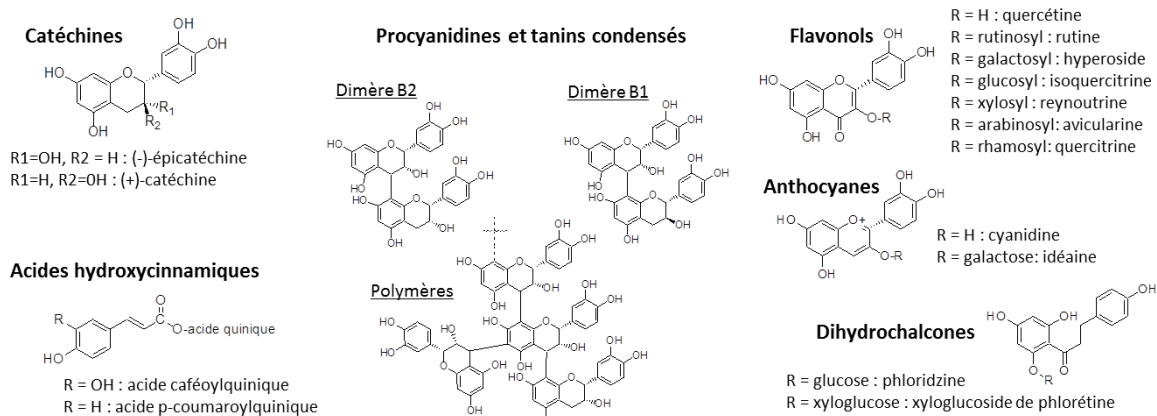


Figure 1: Les différentes catégories de polyphénols de la pomme

1.3 La diversité variétale de la pomme à cidre

Le verger cidricole français compte plusieurs centaines voire quelques milliers de variétés recensées comme « pommes à cidre » (Boré et Fleckinger, 1997). Sans évidemment explorer cette diversité de façon exhaustive, nos travaux de ces quinze dernières années ont permis de mettre en évidence la grande diversité des profils polyphénoliques des principales variétés cidrières, notamment parmi celles

recommandées et inscrites au catalogue CTPS (IFPC, Site Web). La Figure 2 met en évidence cette diversité polyphénolique variétale des pommes à cidre tant sur les aspects qualitatifs que quantitatifs (Sanoner et al., 1999). Les variétés de table apparaissent nettement plus pauvres en composés phénoliques que les variétés à cidre et ceci même comparées aux variétés à cidre classées « douces » ou « acidulées » pourtant plutôt considérées comme pauvres en polyphénols (Tableau 1).

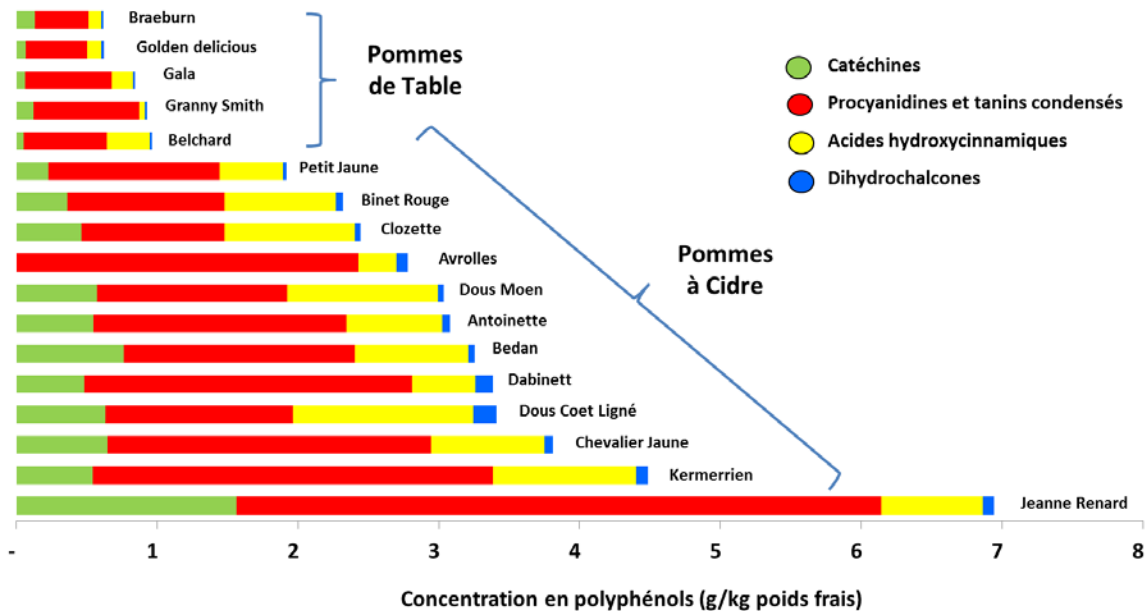


Figure 2 : Profils polyphénoliques de variétés de pommes à cidre et de pommes de table (d'après Sanoner et al., 1999 et Guyot et al., 2002)

L'utilisation de la thiolysse couplée à la HPLC en phase inverse (Guyot et al., 2001b), une méthode analytique particulièrement bien adaptée au dosage précis de la catégorie des procyanidines et tanins condensés même dans leurs formes très polymérisées, a véritablement permis de mesurer la juste contribution de ces catégories de composés aux profils polyphénoliques des fruits : quelle que soit la variété et cela se vérifie aussi pour les pommes de table (Guyot et al., 2002), la catégorie des tanins (procyanidines oligomères et tanins condensés) correspond bien à la classe majoritaire des polyphénols de la pomme (Figure 2). Leur concentration dans le fruit est cependant très variable selon les variétés de même que leur structure et en particulier leur degré moyen de polymérisation (DP_n). A ce propos, on soulignera le cas très particulier de variétés comme *Avrolles* (Figure 2) ou *Guillevic* (non représenté) qui contiennent des teneurs importantes en tanins exceptionnellement polymérisés avec des DP_n de l'ordre de 30 à 70.

Comme le montre aussi la Figure 2, catéchines, acides hydroxycinnamiques et dihydrochalcones sont aussi des catégories dont les concentrations varient en fonction de la variété. On comprend de ce fait que la seule « teneur en polyphénols totaux » dans un fruit ou dans un moût est à l'évidence largement insuffisante pour rendre compte de la diversité polyphénolique des variétés de pommes à cidre. Comparons pour exemple les variétés *Avrolles* et *Dous Moen*. Bien que leurs fruits présentent des teneurs en polyphénols sensiblement équivalentes, on s'aperçoit que leur répartition dans les catégories est drastiquement différente. On souligne même l'absence de catéchines dans la variété *Avrolles* avec des tanins hautement polymérisés représentant près de 90% des polyphénols. De fait, ces deux variétés ont des comportements technologiques excessivement contrastés avec des conséquences marquées sur les qualités organoleptiques des produits finis utilisant ces variétés en proportions significativement différentes. Plus récemment, la variabilité génétique des polyphénols de la

pomme à cidre a été précisée par l'analyse fine des profils polyphénoliques des fruits de plusieurs centaines d'individus correspondant à une descendance issue d'un croisement entre une pomme à cidre et une pomme de table (Verdu et al., 2014a) et certains QTLs impliqués dans le contrôle de la biosynthèse des procyanidines et de leur degré de polymérisation ont pu être identifiés (Verdu et al., 2014b).

Notons aussi que l'état de maturité des fruits peut avoir des conséquences sur les teneurs en polyphénols. Ainsi, lors de la période de maturation pré-récolte qui correspond à la phase régression de l'amidon et de sa conversion en sucres, nous avons observé, pour plusieurs variétés à cidre, une légère diminution des teneurs en différentes catégories de composés phénoliques dans les fruits (Guyot et al., 2003). Dans le cas général, cela avait peu de conséquences sur les teneurs observées dans les moûts, à l'exception de la variété Avrolles qui a montré une très faible extraction de ses tanins polymérisés pour les fruits mûrs alors que l'extraction s'est avérée massive lorsque réalisée à partir de fruits immatures. En revanche, une maturation post-récolte des fruits, bien que n'affectant pas la teneur des composés phénoliques dans les fruits, se traduit par une augmentation des teneurs en polyphénols dans les moûts obtenus (travaux non publiés).

2. Des polyphénols aux propriétés spécifiques liées à leur diversité structurale.

En technologie cidricole, la phase d'extraction du moût, qui correspond au râpage et au pressurage des fruits, est une étape essentielle au cours de laquelle les polyphénols sont particulièrement concernés par des phénomènes de partitions physicochimiques et/ou des réactions biochimiques et chimiques avec des conséquences notoires sur les qualités sensorielles des produits finis: (i) certains polyphénols s'oxydent par voie enzymatique en présence d'oxygène, (ii) certains polyphénols s'adsorbent sur les structures polysaccharidiques pariétales insolubles des fruits, (iii) ces deux phénomènes sont concomitants, et c'est ce dernier point qui rend particulièrement complexe leur étude et leur compréhension. Signalons aussi que l'oxydation entraîne une consommation d'oxygène qui, dans le cas des moûts les plus riches en polyphénoloxydase (PPO), est suffisamment rapide pour entrer en compétition avec les micro-organismes et intervenir dans la succession des flores lors de la fermentation. Par ailleurs, les polyphénols et en particulier les procyanidines possèdent la propriété de se complexer et de s'associer aux protéines avec des conséquences sensorielles notoires lorsqu'il s'agit de protéines salivaires. Enfin, ces propriétés sont à mettre directement en relation avec certaines déstabilisations colloïdales conduisant à l'apparition de troubles et de précipités lors du stockage des cidres en bouteille. Ainsi, en s'appuyant largement sur les résultats de nos travaux, les paragraphes suivants visent à décrire de façon synthétique ces mécanismes d'oxydation et d'adsorption dans le contexte cidricole. Nous y développons aussi quelques éléments de discussions issus de travaux récents sur le rôle des polyphénols, et en particulier des procyanidines et tanins condensés, dans la perception de l'amertume et l'astringence des cidres.

2.1 Oxydation enzymatique des polyphénols en contexte cidricole

Polyphénols, polyphénoloxydase (PPO) et oxygène moléculaire sont, sans conteste, les trois acteurs majeurs impliqués dans un scénario qui aboutit à l'oxydation d'une partie des polyphénols du fruit (Nicolas et al., 1994) et à la formation de produits d'oxydation polyphénoliques dans le moût.

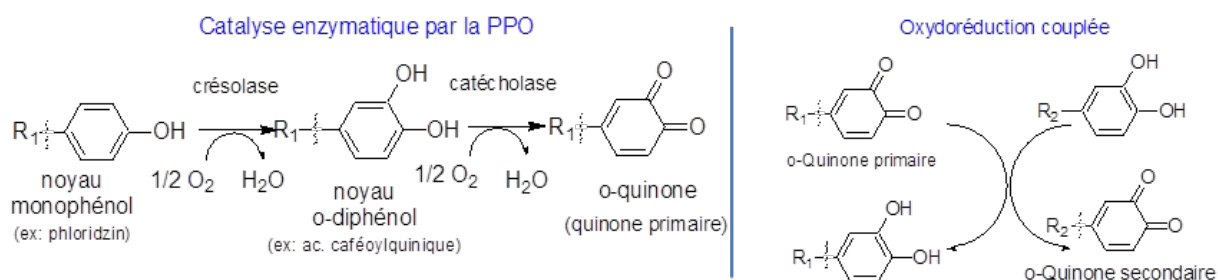


Figure 3 : Formation des *o*-quinones par voies enzymatiques (PPO) et oxydoréductions couplées

Dans les tissus intègres du fruit, ces trois acteurs sont différemment compartimentés: les polyphénols sont dans les vacuoles des cellules, la polyphénoloxydase se trouve localisée dans les plastes tandis que l'oxygène est significativement présent dans les méats intercellulaires. Lors du râpage et du pressage, la déstructuration cellulaire aboutit à la mise en contact des polyphénols et de la PPO en présence d'oxygène. Le principal substrat de l'activité catécholase de la PPO dans la pomme, à savoir l'acide caféoylquinique (Figure 1), est alors converti en son *o*-quinone. Les dihydrochalcones (phloridzine et xyloglucoside de phlorétine) sont aussi potentiellement concernées par cette oxydation enzymatique du fait de l'activité crésolase de la PPO (Figure 3).

Soulignons que certaines catégories de polyphénols et c'est le cas des procyanidines et des tanins condensés, bien que non substrats des PPO, sont en partie convertis en *o*-quinones par un mécanisme d'oxydoréduction couplée (Figure 3). On parle alors de quinones secondaires. La (-)-épicatéchine est également oxydée en grande partie par ce mécanisme bien qu'aussi substrat de la PPO.

2.1.1 Revisitons l'idée préconçue de la polymérisation des quinones et de la formation systématique de produits colorés par oxydation.

L'idée court encore souvent que ces *o*-quinones, qu'elles soient primaires ou secondaires, évoluent vers des formes polymérisées complexes souvent désignées par le terme imprécis de « mélanoidines » ou « pigments bruns ». Par ailleurs, on considère encore souvent injustement que l'oxydation des polyphénols aboutit surtout à des produits colorés en se focalisant sur le terme de « brunissement enzymatique ». Beaucoup de résultats de nos travaux sur la formation et la caractérisation structurale des produits d'oxydation en modèle « pomme, jus et cidre » ne vont pas dans ce sens (Guyot et al., 1996 ; Bernillon et al., 2004 ; Guyot et al., 2008 ; Poupard et al., 2011). Certes, les *o*-quinones sont des espèces fortement réactives et instables pouvant conduire à la formation d'autres espèces phénoliques instables tels que des radicaux semi-quinones. Mais le plus souvent, au final, ces espèces semblent se stabiliser par des mécanismes de dimérisation et/ou de réarrangements intramoléculaires. Ce mécanisme est par exemple illustré par l'oxydation de la procyanidine dimère B2 dans un milieu mimant les conditions du jus de pomme (Poupard et al., 2011).

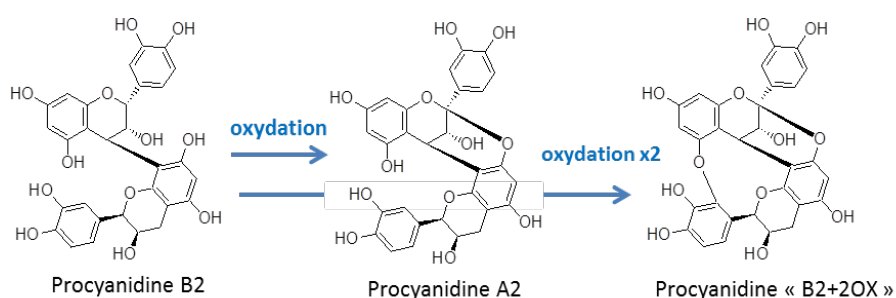


Figure 4 : Oxydation de la procyanidine B2 en modèle « jus de pomme » (d'après Poupard et al., 2011)

On a ainsi pu montrer que, même si ce n'est pas la seule réaction observée, l'oxydation en modèle jus de pomme permet la conversion des structures de procyanidines de type B vers des structures de type A, et même vers des structures encore plus oxydées et stabilisées par la formation de deux liaisons interflavoniques supplémentaires (Figure 4). L'outil HPLC couplé à la spectrométrie de masse nous a permis de confirmer ce type de mécanisme d'oxydation et d'additions intramoléculaires pour des procyanidines plus polymérisées telles que des formes trimères, tétramères et pentamères (résultats non publiés). On souligne que ces produits d'oxydation des tanins mais aussi beaucoup parmi ceux issus de l'oxydation d'autres molécules phénoliques de la pomme (acides caféoylquinique, catéchines) se révèlent être des molécules incolores qui, tout en étant pourtant dans des états d'oxydation relativement élevés, ne contribuent donc pas à la couleur des jus et des cidres. En d'autres termes, retenons que l'absence de « brunissement » d'un jus de pomme ne signifie pas forcément qu'il n'y a pas eu oxydation des polyphénols.

2.1.2 Cas particulier de quelques produits d'oxydation colorés : le POP (produit d'oxydation de la phloridzine) et les déhydrocatéchines de type A.

Nos travaux sur l'oxydation des polyphénols de la pomme nous ont cependant permis de mettre en évidence des cas particuliers conduisant à la formation de molécules colorées. L'exemple du POP, produit d'oxydation de la phloridzine, est sans conteste le plus marquant. Comme mentionné en paragraphe 1.2, la phloridzine est une molécule phénolique assez spécifique de la pomme et particulièrement concentrée dans les pépins. En outre, c'est un substrat de l'activité crésolase de la PPO (Figure 3). Cette molécule présente un comportement à l'oxydation très différent du cas le plus fréquemment rencontré pour les autres catégories de polyphénols de la pomme pour lesquelles l'oxydation enzymatique d'une molécule conduit à une multiplicité de produits correspondant à de nombreuses formes isomères issues de dimérisation et/ou de réarrangements intramoléculaires (Le Guerneve et al., 2004 ; Guyot et al., 2007). Ainsi, l'oxydation de la phloridzine par la PPO de pomme s'exerce de façon franchement monodirectionnelle en mettant en œuvre deux étapes d'oxydation successives et deux étapes de réarrangements par addition intramoléculaire ainsi que l'addition d'une molécule d'eau (Figure 5). Au final, la molécule qui s'accumule, le POPj, présente un chromophore jaune et une fonction carboxyle lui conférant une très forte solubilité dans l'eau (Figure 5).

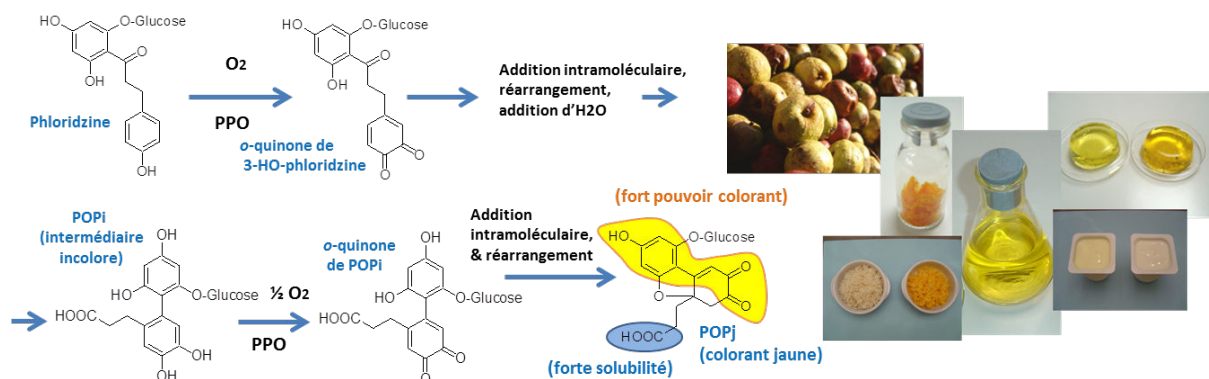


Figure 5 : Schéma réactionnel de formation du POPj et quelques illustrations d'applications

La molécule, pouvant être produite à partir d'extrait enrichi en phloridzine issu de marc de pomme et en utilisant un extrait PPO de pomme, a fait l'objet d'un brevet (Sanoner et al., 2005). Elle se positionne comme un substituant potentiel de la tartrazine (E102).

La catégorie des catéchines peut aussi conduire par oxydation à la formation de produits colorés jaunes nommés déhydrocatéchines A. Ces molécules résultent de mécanismes combinant oxydation enzymatique en *o*-quinone, dimérisation, ré-oxydation et réarrangement intramoléculaire (Guyot et al.,

1996). Ces molécules, facilement formées en solutions modèles, sont cependant difficilement détectées dans les moûts et les cidres.

2.2. Les procyanidines et tanins condensés sont très hydrosolubles et interagissent fortement avec polysaccharides et protéines

Parmi les différentes catégories de polyphénols constitutives des fruits à cidres et contrairement à l'idée reçue, les procyanidines, et ceci même sous leurs formes hautement polymérisées (tanins condensés), demeurent très fortement solubles en milieu aqueux (Zanchi et al., 2009). Elles présentent, par ailleurs, une très forte affinité pour les structures protéiques en s'y associant et en formant des complexes et des agrégats pouvant précipiter (Le Bourvellec et Renard, 2012). Le terme « tanin » est d'ailleurs directement lié à cette propriété d'interaction avec les protéines (Bate-Smith et Swain, 1962). De la même façon, les procyanidines ont la capacité de s'adsorber fortement sur les structures polysaccharidiques composant les parois cellulaires des tissus de pomme (Renard et al., 2001). Les associations tanins-protéines sont essentiellement gouvernées par des interactions hydrophobes et par la formation de liaisons hydrogènes impliquant la fonction phénol par son caractère acide (donneur de proton). L'adsorption des tanins sur les polysaccharides de la paroi végétale semble régie par les mêmes types d'interactions (Renard et al., 2001 ; Le Bourvellec et al., 2004b). Plusieurs facteurs influent sur la capacité d'association entre tanins et protéines ou polysaccharides (Le Bourvellec et Renard, 2012). Parmi ceux-ci, on peut citer la structure des tanins, celle des protéines ou polysaccharides, les concentrations relatives des différentes espèces, les conditions du milieu (nature du solvant, force ionique, température, pH,...). Sans faire ici une revue exhaustive des interactions entre tanins et macromolécules, on peut souligner que la taille des tanins, en relation directe avec le degré de polymérisation (Zanchi et al., 2009), est un critère majeur influençant leur capacité d'interaction (Le Bourvellec et Renard, 2012). De façon générale, les tanins les plus polymérisés ont davantage de capacité à précipiter les protéines ou à s'adsorber sur les structures pariétales. La structure des protéines est aussi un critère important. Ainsi, les protéines riches en proline, du fait d'une structure souvent moins compacte, sont aussi celles qui ont le plus d'aptitude à se complexer avec les tanins. Ce point explique par exemple la capacité de la gélatine à éliminer efficacement la fraction la plus polymérisée des tanins dans des opérations de clarification post fermentaire telles que le collage protéique. La proline est aussi fortement présente dans la structure des protéines salivaires qui se trouvent en partie précipitées dans la cavité buccale au contact des tanins. La perte de lubrification qui s'en suit est responsable de la sensation d'astringence. De même, la nature du polysaccharide est essentielle. Ainsi, l'affinité des procyanidines de pomme pour plusieurs types de polysaccharides décroît dans l'ordre suivant : pectine >> xyloglucane > amidon > cellulose (Le Bourvellec et al., 2005b).

On comprend donc que ces propriétés auront des conséquences directes tant dans certaines étapes unitaires de l'élaboration des cidres et jus de pomme (râpage, pressage, clarification, collage...) que dans les qualités gustatives des cidres et leur aptitude à la conservation sans perte de leur stabilité colloïdale. Ces aspects sont davantage développés dans les paragraphes suivants.

3. Polyphénols et impact des procédés.

Les polyphénols du cidre sont avant tout impactés par le choix variétal mais la teneur finale, dans les moûts et les cidres, est souvent bien inférieure à celle des fruits (Guyot et al., 2003). De plus, la comparaison systématique de la composition phénolique des fruits à celle de leurs jus montre que les différentes classes de polyphénols ne se répartissent pas d'une façon identique entre les moûts et les marcs, les taux de transfert du fruit vers le moût étant nettement plus bas pour les procyanidines. Au-delà de cette observation liée à l'étape d'extraction du moût, des opérations unitaires comme le collage ou des phénomènes comme l'oxydation, vont aussi impacter quantitativement et qualitativement la composition du cidre en polyphénols et, plus particulièrement, en procyanidines. Les perceptions

d'amertume et d'astringence étant principalement dues à la teneur et au degré de polymérisation des procyanidines, le choix des conditions de traitement ne seront pas neutres sur le plan sensoriel même par rapport au choix variétal. A noter toutefois que les interactions avec les autres saveurs comme le sucre et l'acidité doivent également être prises en compte pour une bonne compréhension de ces perceptions.

Cette partie a pour objectif i) de montrer l'impact biochimique des opérations présentant un effet significatif sur les polyphénols et ii) de hiérarchiser les effets des différentes opérations unitaires par comparaison à l'effet variétal sur le plan de la perception de l'amertume et de l'astringence du cidre.

3.1 Modulation du contenu polyphénolique lors de l'extraction

L'existence d'une forte adsorption des procyanidines sur les parois de pomme a été clairement démontrée par l'INRA URC-BFL en utilisant des parois isolées et des extraits polyphénoliques contenant uniquement des composés phénoliques natifs (Renard et al., 2001 ; Le Bourvellec et al., 2004a ; Le Bourvellec et al., 2004b ; Le Bourvellec et al., 2005a ; Le Bourvellec et al., 2005b, Le Bourvellec et al., 2009). L'impact des conditions (l'acidité, la force ionique, la teneur en procyanidines et leur DP_n, la quantité de paroi et la température) sur l'équilibre d'adsorption a été quantifié et modélisé et permet d'expliquer en grande partie la perte de polyphénols lors de l'extraction. Néanmoins, l'étape d'extraction, en déstructurant les tissus, correspond également à la mise en contact des polyphénols avec la PPO et l'oxygène. La présence simultanée de ces trois éléments permet l'oxydation des polyphénols et la formation de polyphénols néoformés qui n'étaient pas pris en compte dans le modèle. Par la suite, les effets de différents facteurs identifiés comme étant les plus significatifs sur le transfert des polyphénols du fruit vers le moût (la température, l'oxydation et la durée de macération de la râpüre) ont été évalués de façon plus globale, en conditions pilote, sur un choix contrasté de variétés cidricoles (Renard et al., 2011).

Au cours de l'extraction, la râpüre est parfois conservée en cuve entre le râpage de la pomme et le pressage pendant une durée variable. Cette étape, appelée cuvage en cidrerie, provoque une macération qui permet la diffusion et la mise en contact nécessaires à l'adsorption des polyphénols sur les parois cellulaires. L'impact de cette étape de macération sur les polyphénols est à la fois quantitatif (réduction de la concentration de polyphénols) et qualitatif (modification du profil des polyphénols en général et des procyanidines en particulier). L'effet qualitatif est dû à la forte affinité des procyanidines de haut DP pour la paroi. L'adsorption sélective qui en résulte entraîne une augmentation relative des petits DP. La température, sur la plage de 4 à 25°C, modifie significativement le rendement de transfert des procyanidines du fruit vers le moût (Figure 6A) au cours du cuvage.

Cet effet de la température s'explique par le fait que les liaisons de faible énergie qui sont mises en œuvre dans ces adsorptions sont nettement favorisées par les températures basses : la rétention est donc maximale lors d'un cuvage froid. Pour les autres polyphénols, le taux de transfert est variable : il est très élevé pour les acides hydroxycinnamiques (acides caféoylquinique et p-coumaroylquinique) ; il est en revanche plus faible pour les dihydrochalcones (phloridzine et xyloglucoside de phlorétine). Pour ces composés, le taux de transfert n'est pas affecté par l'adsorption sur les parois mais par d'autres mécanismes : les dihydrochalcones diffusent au cours de la macération et la température est plutôt favorable au transfert tandis que les acides hydroxycinnamiques peuvent être oxydés au cours de la même opération et diminuer avec la température.

Comme discuté précédemment, l'oxydation des polyphénols produit des composés phénoliques néoformés qui ont des propriétés différentes des composés natifs dont ils dérivent. L'impact le plus perceptible est l'apparition de la couleur qui, dans les cidres, est due à des polyphénols néoformés absorbant certaines radiations dans le visible (entre 400 et 700 nm). Les catéchines et l'acide chlorogénique sont très impliqués dans cette coloration. Mais l'oxydation peut aussi modifier la structure des procyanidines et ainsi modifier leur affinité pour la paroi. Après oxydation, les procyanidines ont

davantage d'affinité pour les parois (Le Bourvellec et al., 2009) et inhibent d'avantage la PPO (Le Bourvellec et al., 2004), ce qui suggère une plus forte réactivité vis-à-vis des protéines (Poupard, 2008). Par ailleurs, dans le cas d'une oxydation en présence de parois, plusieurs observations ont amené à faire l'hypothèse d'une possible addition directe des quinones sur les composés pariétaux. Les résidus polyphénoliques seraient alors liés aux parois par des liaisons covalentes non réversibles et non affectées par les températures élevées. Ainsi, quels que soient les mécanismes, l'oxydation de la râpure modifie à la fois la teneur des moûts en composés phénoliques natifs et leur couleur. Ce traitement peut conduire, en cas d'hyper-oxydation, jusqu'à l'absence de passage de composés phénoliques natifs dans le moût (Figure 6B).

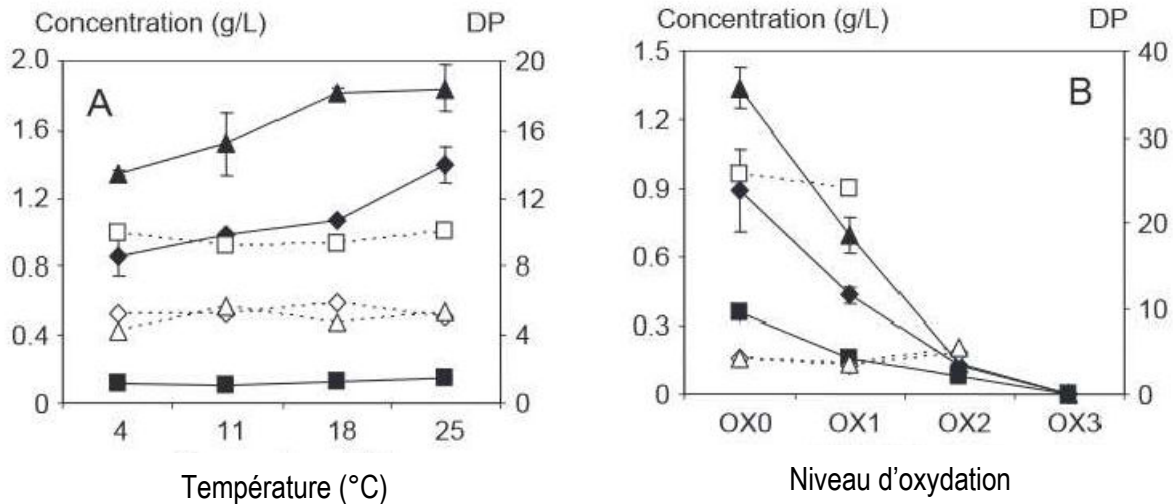


Figure 6 : Transfert de procyanidines du fruit vers le moût pour différentes variétés (*Douce Moen* (losange), *Guillevic* (carré) et *Kermerien* (triangle)). Concentration en procyanidines (symboles pleins) et leur degré de polymérisation (symboles blancs) dans les moûts obtenus à différentes températures (A) et pour différentes modalités d'oxydation de la râpure (B). OX0 : sans oxydation, OX1 : macération 20 min à l'air sans agitation, OX2 : macération 20 min à l'air avec agitation, OX3 : macération 4 h à l'air avec agitation. Température 11-15°C. (d'après Renard, Le Quéré et al. 2011)

La Figure 7 résume bien les effets biochimiques des conditions d'extraction en illustrant les modifications quantitatives et qualitatives de la fraction « procyanidines » dans une expérimentation où sont comparés deux itinéraires technologiques extrêmes : d'une part un pressage lent (250 kg/h) d'une râpure à 2°C précédé d'un cuvage d'une heure à cette même température et, d'autre part un pressage rapide (500 kg/h) d'une râpure à 15 °C sans cuvage. L'ensemble des conditions qui favorisent l'adsorption élimine près de 50 % des procyanidines tout en réduisant le degré de polymérisation moyen des procyanidines restantes.

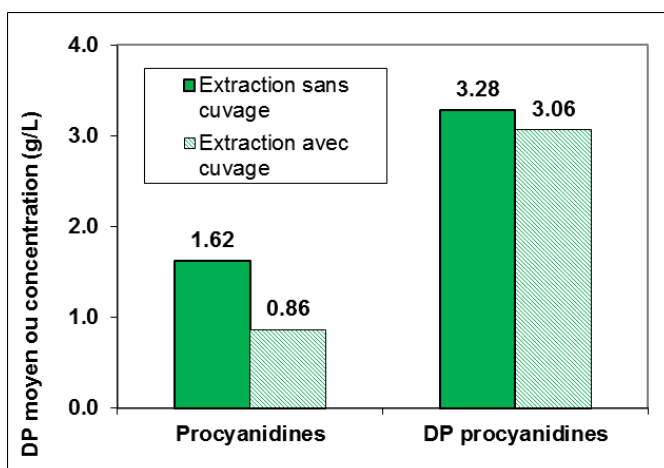


Figure 7 : Effet du type d'extraction sur la teneur et le degré de polymérisation des procyanidines du moût

3.2 Modulation du contenu polyphénolique par les clarifications

L'impact des différents modes de clarification préfermentaire sur la composition en polyphénols des moûts a été mesuré pour différentes variétés cidricoles contrastées (Hubert et al., 2007). Si la teneur en acides hydroxycinnamiques n'est pas modifiée de façon significative, celle des flavan-3-ols, peut au contraire être influencée par la clarification. La dépectinisation enzymatique suivie d'un collage à la gélatine diminue fortement les procyanidines (-30 %) et en réduit nettement le degré de polymérisation moyen (de 2.2 à 1.5). En revanche, après une dépectinisation suivie d'une simple décantation ou d'une microfiltration, la perte de procyanidines reste faible (-10 % à -14% par rapport au moût brut). La clarification pré-fermentaire par gélification des pectines ne modifie pas significativement la teneur en polyphénols dans les conditions expérimentales bien qu'une réduction significative ait pu être observée dans la pratique.

La clarification post-fermentaire par collage à la gélatine fait également diminuer significativement la teneur en polyphénols (Figure 8). Pour la plupart des cidres, cette diminution est exclusivement liée à la diminution des procyanidines (de 6 à 35 %). Pour les produits plus riches en polyphénols, on observe également une diminution de la teneur en acides hydroxycinnamiques. En revanche, les flavan-3-ols monomères et les dihydrochalcones ne sont pas modifiés. L'élimination partielle des procyanidines s'accompagne également d'une diminution de leur degré de polymérisation moyen : le collage à la gélatine favorise également l'élimination des composés phénoliques les plus polymérisés.

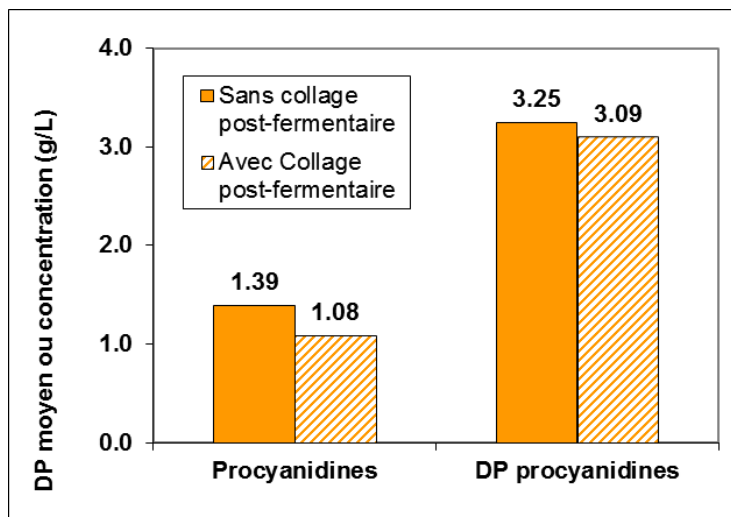


Figure 8 : Effet du collage post-fermentaire sur la teneur et le degré de polymérisation des procyanidines du cidre.

3.3 Impact des conditions de transformation sur l'amertume et l'astringence

Durant l'expérimentation sur la macération de la râpure déjà décrite plus haut (Renard et al., 2011), il a été montré que l'oxydation de la râpure au cours du cuvage peut modifier très fortement les perceptions sensorielles d'amertume et d'astringence et dans une moindre mesure les saveurs sucrée et acide. Cependant, les oxydations maximales de cette expérimentation sont des conditions extrêmes, peu fréquentes dans la réalité. Une expérimentation globale sur la production de cidre a été réalisée, dans des conditions proches de la production classique, pour évaluer et hiérarchiser l'impact des différents procédés sur les perceptions par rapport à l'impact variétal.

La Figure 9 représente sous forme d'histogramme les coefficients du modèle statistique reliant les deux perceptions aux conditions de production ayant un effet significatif (chaque condition étant codée -1 et +1). Ainsi, il est possible de hiérarchiser les effets principaux et les effets d'interaction de ces conditions. Pour l'astringence, les facteurs ayant le plus d'impact sont le type d'extraction ($\pm 0,52$) et la variété ($\pm 0,45$). La réalisation d'un cuvage froid en amont du pressage peut donc « compenser » en partie le choix

variétal. La réalisation d'une clarification par collage soit pré ou post-fermentaire a aussi un effet significatif mais plus faible ($=\pm 0,23$). Les impacts organoleptiques observés vont dans le sens d'une diminution de l'astringence avec la réalisation d'un cuvage et d'une clarification par collage. Pour l'amertume, c'est le choix variétal qui a le plus d'influence ($\pm 0,48$) et le type d'extraction avec ou sans cuvage a un effet bien moins important ($< \pm 0,2$).

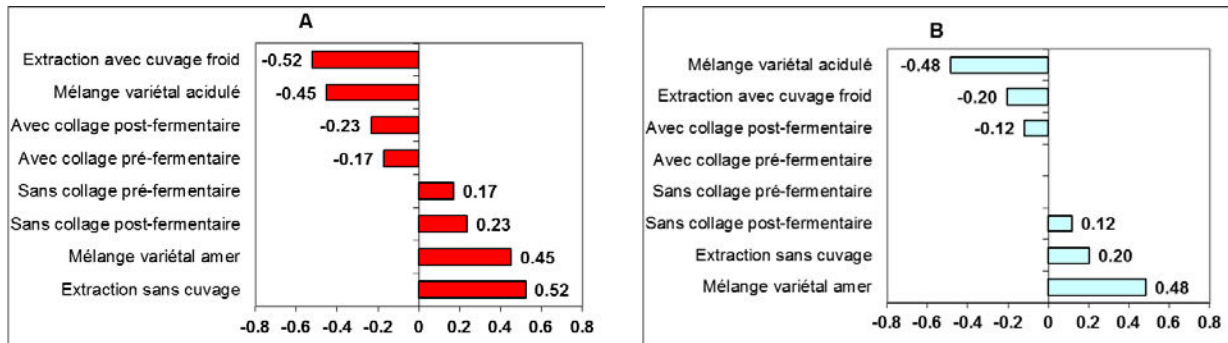


Figure 9 : Effets des différentes modalités sur les notes d'astringence (A) et d'amertume (B). (gamme de notation de 1 à 5)

Deux types de conséquences peuvent être déduites de ces observations : i) le choix variétal module de façon équivalente l'amertume et l'astringence et ii) les procédés technologiques (type d'extraction, collage pré-fermentaire et collage post-fermentaire) diminuent plus l'astringence que l'amertume. Autrement dit, bien que l'amertume et l'astringence soient liées à une même famille de polyphénols, les procédés technologiques permettent un découplage partiel des deux perceptions alors que le simple assemblage variétal modifie simultanément les deux. Par ailleurs, l'efficacité des collages pré- ou post-fermentaire dans ce but est moindre que celle des conditions d'extraction.

4. Saveurs et sensations somesthésiques des polyphénols

Pourquoi intituler ce paragraphe «saveur et sensations somesthésiques» et non pas plus simplement «amertume et astringence»? En fait, il s'avère qu'une très grande partie de la littérature sur les polyphénols dans les matrices alimentaires se concentre sur le rôle de polyphénols et plus particulièrement des proanthocyanidines sur l'amertume et l'astringence (Kallithraka et al., 1997; Peleg et al., 1999 ; Vidal et al., 2003 ; Vidal et al., 2004 ; Lesschaeve et Noble, 2005). Si l'amertume est bien une saveur, l'astringence est une sensation avant tout tactile perçue en bouche produisant une impression de sécheresse et de resserrement des muqueuses (Breslin et al., 1993). C'est donc une sensation somesthésique¹. Même s'il est largement accepté que les interactions entre les proanthocyanidines et les protéines salivaires ont un rôle déterminant dans la perception de l'astringence par la formation de complexes tanins-protéines, qui précipitent diminuant la capacité lubrifiante de la salive, les mécanismes physiologiques et physicochimiques ne sont pas encore totalement élucidés (Ma et al., 2014). L'amertume, pour sa part, résulte de l'interaction des composés amers avec des récepteurs protéiques situés au sein des bourgeons gustatifs dans des cellules sensorielles. Les récepteurs à l'amertume de certains composés comme la catéchine sont aujourd'hui identifiés. Mais ce n'est pas le cas pour les molécules de plus grande taille comme les oligomères et les polymères d'épicatéchine qui composent les produits cidricoles.

¹ Une sensation somesthésique est une perception consciente via des organes comme la peau, les viscères, le système musculaire et ostéo-articulaire.

Mais limiter l'impact des polyphénols à leur action sur ces deux sensations est réducteur. En effet, l'acidité et le sucré, qui sont deux attributs importants dans les caractéristiques organoleptiques des cidres, sont également modifiés en présence de polyphénols par le jeu d'interactions chimiques, physiologiques ou cognitives.

4.1 La concentration et le degré de polymérisation des procyanidines régissent l'amertume et l'astringence

Les procyanidines de pommes à cidre sont, comme nous l'avons vu précédemment, constitué majoritairement d'unités épicatechines. Ils peuvent par conséquent avoir un impact différent des proanthocyanidines du vin qui présentent une forte proportion de prodelphinidine (d'unité catéchine) et peuvent être également galloylés. Seuls, les travaux de Lea et Arnold (1978) et plus récemment ceux de Symoneaux et al. (2014a) et Symoneaux et al. (2014b) étudient la particularité des procyanidines de pommes dans la matrice cidricole, notamment en travaillant avec des extraits purifiés de procyanidines de pommes permettant d'étudier l'impact du degré de polymérisation sur la perception indépendamment de la concentration.

La concentration en procyanidines et le degré de polymérisation sont déterminants dans l'amertume et l'astringence perçues de solutions modèles hydroalcooliques contenant du sucre et de l'acide malique. Pour l'astringence, il est observé (Figure 10 A) qu'elle augmente avec la concentration et le degré de polymérisation. De plus, cette augmentation est plus forte lors du passage de 250 mg/L à 750 mg/L pour les échantillons avec un degré de polymérisation élevée que ceux avec des procyanidines de petites tailles. Ce même résultat est observé dans des solutions plus complexes contenant des pools de procyanidines variant au niveau du degré moyen de polymérisation pour lesquels l'augmentation d'astringence était plus forte à mesure que la concentration augmentait pour les échantillons présentant un degré moyen de polymérisation plus élevé.

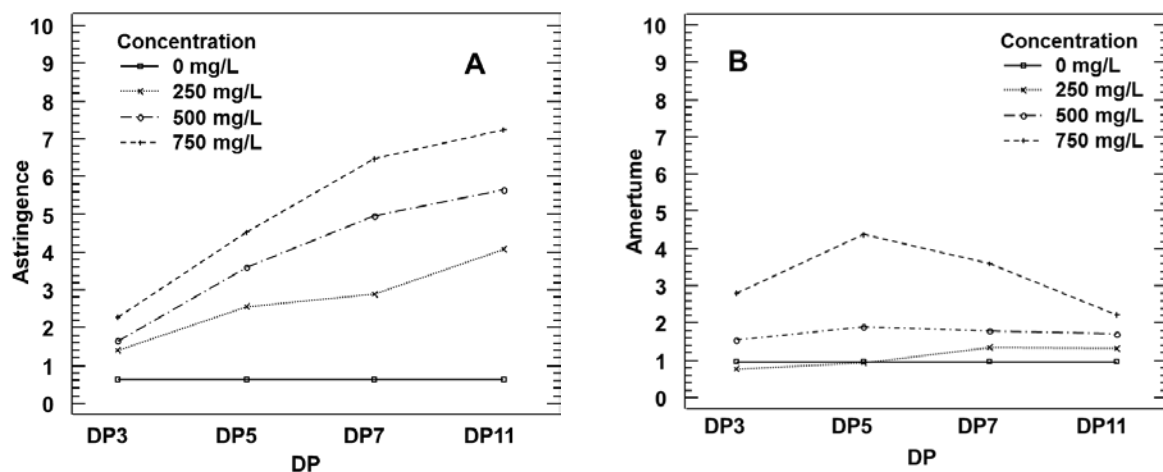


Figure 10 : Effets du degré de polymérisation (DP) des procyanidines sur les notes d'astringence (A) et d'amertume (B) (d'après Symoneaux et al., 2014a).

Concernant l'amertume, Symoneaux et al. (2014a,b) ont identifié (Figure 10 B), comme l'avaient observé Lea et al (1978) une plus forte amertume pour les procyanidines tétramères et pentamères. Cependant, il faut noter que cet effet n'est rencontré que pour les échantillons contenant 750 mg/L. En dessous, le degré de polymérisation influence peu l'amertume et c'est alors la concentration qui modifie

globalement cette sensation. A 250 mg/L, quel que soit le DP, les dégustateurs font peu de différence avec une solution sans procyanidines.

4.2 Les procyanidines peuvent interagir sur le sucré et l'acidité

La présence de procyanidines en plus ou moins grande quantité dans les produits cidricoles a également un impact sur le sucré et l'acidité. Les effets supprimeurs entre les composés amers et sucrés sont bien décrits dans la littérature mais le plus souvent avec d'autres molécules que les procyanidines. De la même manière que la caféine ou le sulfate de quinine (Lyman et Green, 1990 ; Keast et Breslin, 2003 ; Keast, 2008), les procyanidines peuvent diminuer la perception sucrée. Aussi, la concentration en procyanidines mais également le degré de polymérisation de celles-ci modulent le sucré. Plus le produit contient de procyanidines, moins l'échantillon sera perçu sucré. Dans une matrice cidricole, les variations de fructose qui est le sucre majoritaire, sont beaucoup plus impactant sur la perception sucrée que celles des polyphénols. Mais, à même concentration de sucre, la concentration en procyanidines peut moduler assez fortement le sucré. De même, si l'échantillon contient une fraction polyphénolique avec des procyanidines plus amères, il sera perçu moins sucré que d'autres échantillons avec les mêmes concentrations des autres composés (sucre, alcool, acide et polyphénols totaux).

Enfin, l'acidité perçue semble être augmentée en présence d'une plus forte concentration en procyanidines. Quoique significative, cette augmentation est peu importante et est observée lors d'augmentations très fortes de la teneur en procyanidines. Dans la mesure où ce phénomène est plus marqué pour les échantillons dont les procyanidines sont plus amères, on peut supposer que cette augmentation de l'acidité est la résultante collatérale de la diminution du sucré mentionnée précédemment, dans une double interaction. Ainsi, dans un cidre qui contient du sucre, de l'acide et des polyphénols, l'augmentation en polyphénols conduit à une diminution du sucré qui elle-même modifie la perception de l'acidité perçue.

4.3 Les procyanidines au cœur des interactions dans le cidre

Ainsi, il apparaît que la concentration en procyanidines et leurs caractéristiques, à savoir la distribution en oligomères et polymères (degré de polymérisation) interviennent dans la modulation des caractéristiques organoleptiques des cidres, l'amertume et l'astringence mais également le sucré et l'acidité. Aussi, les opérations techniques, décrites ci-avant pour leurs impacts sur la teneur et sur les profils des polyphénols, vont modifier de façon significative la perception gustative du cidre. La construction des caractéristiques sensorielles est bien la résultante d'interactions complexes entre tous les composés du cidre parmi lesquels les procyanidines ont un rôle important à jouer.

5. Vers une meilleure compréhension des molécules de la couleur des cidres, de leur formation et de leur stabilité.

Parmi nos travaux en cours relatifs aux polyphénols, à leur réactivité et à leur implication dans la qualité des jus de pomme et des cidres, une part importante porte aujourd'hui sur l'élucidation des structures, des mécanismes de formation et de la stabilité des molécules responsables de la couleur. Celle-ci se décline en teintes allant du jaune pâle à nuance de vert pour des produits telles que les cidres Guillevic² jusqu'à l'orange profond voire l'acajou notamment pour certains cidres du sud Finistère très riches en polyphénols. On souligne l'engouement actuellement pour les cidres rosés fabriqués pour la plupart en incorporant une fraction de pomme à chair rouge. Le programme interrégional Bretagne & Pays de

² Le cidre « Guillevic » bénéficie d'un Label Rouge et est fabriqué uniquement avec la variété Guillevic donnant des cidres peu colorés

Loire CICHROM (2013-2016) porte ces recherches dans un partenariat entre l'équipe PRP-BIA de l'INRA à Rennes-Le Rheu, le laboratoire Grappe de l'ESA d'Angers, le laboratoire PNSCM de l'Université de Rennes 1 et l'Institut Français des Productions Cidricoles.

On sait déjà que la couleur des cidres est essentiellement une question d'oxydation des polyphénols mais étonnamment, les molécules véritablement responsables demeurent encore non identifiées. Les premiers résultats montrent que celles-ci semblent se répartir en trois catégories : (i) de petites molécules polaires probablement proches de la structure du POP discutée ci-avant, (ii) des molécules moins polaires dont le chromophore se rapprocherait des structures des déhydrocatéchines de type A (Guyot et al., 1996) et (iii) un pool de molécules « colorées et tannantes » correspondant à une fraction des tanins oxydés. On montre aussi que la fermentation d'un moût de pommes à cidre se traduit par une perte de couleur dont nous explorerons les mécanismes. Par ailleurs, le pH, l'oxygène, les ions métalliques, et les co-pigments sont autant de facteurs qui méritent d'être étudiés pour mieux appréhender et hiérarchiser leur impact sur la couleur des cidres et sa stabilité.

Conclusion et perspectives

Le verger cidricole français constitue un vrai patrimoine qui se définit notamment par l'existence de nombreuses variétés rustiques dont la richesse en polyphénols des fruits est l'une des caractéristiques essentielles. Soulignons que la plupart des autres pays producteurs de boissons fermentées à base de pommes ne disposent pas de cette matière première et utilisent principalement des pommes de table souvent sous la forme de concentrés de jus de pomme dont la teneur en polyphénols est nettement plus faible. Pourtant, ces composés sont désormais considérés comme des phytomicronutriments d'intérêt qui font l'objet d'une argumentation « santé ». Ainsi, les cidriers de ces pays cherchent aujourd'hui à accroître la teneur en polyphénols dans leurs produits. En France, les cidriers disposent donc d'une matière première de qualité qu'ils devraient mieux valoriser dans les années à venir. Cependant, l'utilisation commerciale du « bénéfice santé » des polyphénols dans un produit comme le cidre apparaît limitée en France et en Europe car, d'une part les mécanismes sont encore mal connus et, d'autre part la présence d'alcool rend toute allégation santé impossible à utiliser. Ainsi, l'utilisation de ces fruits à cidre riches en composés phénoliques pour la production de jus de pommes serait moins problématique pour une argumentation « santé ». Dans tous les cas, il est clair que l'utilisation de variétés de pommes à haut potentiel « polyphénols » est une solution plus efficace que la préservation des polyphénols dans des fruits très pauvres en ces composés.

Notons que l'acceptation par le consommateur des perceptions amère et surtout astringente générées par la présence de polyphénols en plus fortes concentrations est probablement le principal frein actuel au développement de jus de pomme plus riches en polyphénols. En effet, les jeunes générations ont l'habitude de saveurs acidulées et sucrées retrouvées dans les sodas. Comme nous l'avons vu, les technologies de production et de traitement des moûts permettent, de nuancer le résultat sensoriel en découplant partiellement l'amertume et l'astringence. Par ailleurs, les fortes interactions entre ces perceptions et le sucre autorisent une marge de manœuvre qu'utilise d'ailleurs déjà le cidre français : la présence de sucres résiduels est actuellement systématique dans les cidres commercialisés qu'ils soient doux ou bruts. Les travaux restent à affiner et à compléter par des techniques plus innovantes comme les champs électriques pulsés pour atteindre une meilleure maîtrise des procédés à l'échelle industrielle.

Parmi les divers critères organoleptiques qui définissent la qualité et la diversité des cidres, la couleur est une conséquence de la présence de polyphénols qui n'a pratiquement pas été mise à profit pour la segmentation des cidres français jusqu'à aujourd'hui. Les cidres sont commercialisés dans des bouteilles vertes qui masquent la couleur des produits. L'arrivée sur le marché des cidres rosés tend à changer légèrement les habitudes mais l'utilisation des bouteilles transparentes reste l'exception. La connaissance des molécules de la couleur et une meilleure compréhension de la formation et de la

stabilité de ces pigments devrait permettre de mieux contrôler la couleur des produits finis sans devoir apporter d'intrants. Cependant, une vraie valorisation de la couleur n'est possible que pour des produits parfaitement limpides, brillants et stables. Ces questions liées à la stabilité colloïdale des jus et des cidres doivent donc être aussi mieux comprises.

Dans les années à venir, une recherche amont est plus que jamais nécessaire pour mieux comprendre les mécanismes physiques, physico-chimiques et biochimiques impliquant les polyphénols dans les matrices cidricoles et la qualité des produits finis. Ces travaux doivent soutenir la filière dans sa démarche actuelle qui vise à valoriser l'image d'une boisson saine, authentique, et naturelle tout en proposant des innovations concrètes basées sur le visuel, la diversité et l'équilibre des saveurs. Il s'agira d'élaborer des produits nouveaux de qualité apportant une touche de fraîcheur et de modernité aux cidres français de demain.

Remerciements

Les auteurs remercient sincèrement toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'obtention de certains résultats qui ont alimenté les discussions présentées dans cet article. Ils remercient aussi les régions Bretagne, Pays de Loire, Basse-Normandie pour leurs soutiens financiers aux programmes CICHROM, CIDOXY, CICLARI, MAIPROCI et INNOVACIDRE ainsi que l'Union Européenne pour son soutien aux projets FLAVO et ISAFRUIT. Les auteurs remercient enfin le Pôle Agronomique Ouest (PAO) pour son soutien dans le montage et la gestion des projets interrégionaux.

Références bibliographiques

- Bagchi D., Swaroop A., Preuss H. G., Bagchi M., 2014. Free radical scavenging, antioxidant and cancer chemoprevention by grape seed proanthocyanidin: An overview. *Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 768, 69-73.
- Bate-Smith E.C., Swain T., 1962. Flavonoid compounds. In: Masson H.S., Florkin A.M. (Eds.). *Comparative Biochemistry*. Academic Press, New York. pp.555-809.
- Bernillon S., Guyot S., Renard C., 2004. Detection of phenolic oxidation products in cider apple juice by high-performance liquid chromatography electrospray ionisation ion trap mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 18, 939-943.
- Boré J., Fleckinger J., 1997. *Pommiers à Cidre, Variétés de France*. INRA Edition: Paris, 771 p.
- Breslin P.A.S., Gilmore M.M., Beauchamp G.K., Green B.G., 1993. Psychophysical evidence that oral astringency is a tactile sensation. *Chemical Senses* 18, 405-417.
- Cooper K.A., Chopra M., Thurnham D.I., 2004. Wine polyphenols and promotion of cardiac health. *Nutrition Research Reviews* 17, 111-129.
- de Lorgeril M., Salen P., Paillard F., Laporte F., Boucher F., de Leiris J., 2002. Mediterranean diet and the French paradox: Two distinct biogeographic concepts for one consolidated scientific theory on the role of nutrition in coronary heart disease. *Cardiovascular Research* 54, 503-515.
- Guyot S., Bernillon S., Poupard P., Renard C., 2008. Multiplicity of Phenolic Oxidation Products in Apple Juices and Ciders, from Synthetic Medium to Commercial Products. In: Daayf F., Lattanzio V. (Eds.). *Recent Advances in Polyphenol Research*. Wiley-Blackwell: Oxford, Vol. 1, pp 278-292.
- Guyot S., Le Bourvellec C., Marnet N., Drilleau J.F., 2002. Procyanidins are the most abundant polyphenols in dessert apples at maturity. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie-Food Science and Technology* 35, 289-291.
- Guyot S., Marnet N., Drilleau J.F., 2001a. Thiolytic-HPLC characterization of apple procyanidins covering a large range of polymerization states. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 14-20.
- Guyot S., Marnet N., Laraba D., Sanoner P., Drilleau J.F., 1998. Reversed-phase HPLC following thiolytic for quantitative estimation and characterization of the four main classes of phenolic compounds in different tissue zones of a French cider apple variety (*Malus domestica* var. Kermerrien). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 1698-1705.

- Guyot S., Marnet N., Sanoner P., Drilleau J.F., 2001b. Direct thiolysis on crude apple materials for high-performance liquid chromatography characterization and quantification of polyphenols in cider apple tissues and juices. *Flavonoids and Other Polyphenols* 335, 57-70.
- Guyot S., Marnet N., Sanoner P., Drilleau J.F., 2003. Variability of the polyphenolic composition of cider apple (*Malus domestica*) fruits and juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 6240-6247.
- Guyot S., Serrand S., Le Quere J.M., Sanoner P., Renard C., 2007. Enzymatic synthesis and physicochemical characterisation of phloridzin oxidation products (POP), a new water-soluble yellow dye deriving from apple. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 8, 443-450.
- Guyot S., Vercauteren J., Cheynier V., 1996. Structural determination of colourless and yellow dimers resulting from (+)-catechin coupling catalysed by grape polyphenoloxidase. *Phytochemistry* 42, 1279-1288.
- Hubert B., Baron A., Le Quéré J.-M., Renard C., 2007. Influence of prefermentary clarification on the composition of apple musts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 5118-5122.
- IFPC, Liste des variétés inscrites au catalogue CTPS. <http://www.ifpc.eu/lifpc/missions/diffusion-du-materiel-vegetal/liste-des-varietes-inscrites-au-catalogue-ctps.html>.
- Kallithraka S., Bakker J., Clifford M., 1997. Evaluation of bitterness and astringency of (+)-catechin and (-)-epicatechin in red wine and in model solution. *Journal of Sensory Studies* 12, 25-37
- Keast R.S.J., 2008. Modification of the bitterness of caffeine. *Food Quality and Preference* 19, 465-472.
- Keast R.S.J., Breslin P.A.S., 2003. An overview of binary taste-taste interactions. *Food Quality and Preference* 14, 111-124.
- Le Bourvellec C., Bouchet B., Renard C.M.G.C., 2005b. Non-covalent interaction between procyanidins and apple cell-wall material. Part III : Study on model polysaccharides. *Biochimica et Biophysica Acta* 1725, 10-18.
- Le Bourvellec C., Guyot S., Renard C.M.G.C., 2009. Interactions between apple (*Malus x domestica* Borkh.) polyphenols and cell walls modulate the extractability of polysaccharides. *Carbohydrate Polymers* 75, 251-261.
- Le Bourvellec C., Guyot S., Renard C.M.G.C., 2004b. Non-covalent interaction between procyanidins and apple cell wall material. Part I - Effect of some environmental parameters. *Biochimica et Biophysica Acta* 192-202.
- Le Bourvellec C., Le Quéré J.-M., Renard C.M.G.C., 2005a. Can the tannin concentration of apple cider juices be calculated from apple composition ? In European Symposium on apple processing (16-18 March), Rennes (France).
- Le Bourvellec C., Le Quere J. M., Sanoner P., Drilleau J.F., Guyot S., 2004a. Inhibition of apple polyphenol oxidase activity by procyanidins and polyphenol oxidation products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 122-130.
- Le Bourvellec C., Renard C., 2012. Interactions between Polyphenols and Macromolecules: Quantification Methods and Mechanisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 52, 213-248.
- Le Guerneve C., Sanoner P., Drilleau J.F., Guyot S., 2004. New compounds obtained by enzymatic oxidation of phloridzin. *Tetrahedron Letters* 45, 6673-6677.
- Lea A.G., Arnold G.M., 1978. The phenolics of cider: bitterness and astringency. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 29, 478-483.
- Lesschaeve I., Noble A.C., 2005. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. *The American journal of clinical nutrition* 81, 330S.
- Lyman B.J., Green B.G., 1990. Oral astringency: effects of repeated exposure and interactions with sweeteners. *Chemical Senses* 15, 151-164.
- Ma W., Guo A., Zhang Y., Wang H., Liu Y., Li H., 2014. A review on astringency and bitterness perception of tannins in wine. *Trends in Food Science & Technology*.

- Nicolas J.J., Richard-Forget F.C., Goupy P.M., Amiot M.J., Aubert S.Y., 1994. Enzymatic browning reactions in apple and apple products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 34, 109-157.
- Peleg H., Gacon K., Schlich P., Noble A.C., 1999. Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79, 1123-1128.
- Poupard P., 2008. Oxydation des procyanidines en solution modèle jus de pomme : caractérisation structurale des produits et étude des propriétés tannantes. Université de Rennes 1, Rennes, France. 226 p
- Poupard P., Sanoner P., Baron A., Renard C., Guyot S., 2011. Characterization of procyanidin B2 oxidation products in an apple juice model solution and confirmation of their presence in apple juice by high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ion trap mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry* 46, 1186-1197.
- Renard C., Baron A., Guyot S., Drilleau J.F., 2001. Interactions between apple cell walls and native apple polyphenols: quantification and some consequences. *International Journal of Biological Macromolecules* 29, 115-125.
- Renard C.M.G.C., Le Quéré J.-M., Bauduin R., Symoneaux R., Le Bourvellec C., Baron A., 2011. Modulating polyphenolic composition and organoleptic properties of apple juices by manipulating the pressing conditions. *Food Chemistry* 124, 117-125.
- Sanoner P., Guyot S., Le Guerneve C., Le Quere J.M., Drilleau J.F., Renard C., 2005. Colouring hydrosoluble yellow preparation derived from dihydrochalcones. Brevet International N° WO 2005/049598 publié le 2 juin 2005.
- Sanoner P., Guyot S., Marnet N., Molle D., Drilleau J.F., 1999. Polyphenol profiles of French cider apple varieties (*Malus domestica* sp.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 4847-4853.
- Symoneaux R., Baron A., Marnet N., Bauduin R., Chollet S., 2014a. Impact of apple procyanidins on sensory perception in model cider (part 1): Polymerisation degree and concentration. *LWT - Food Science and Technology* 57, 22-27.
- Symoneaux R., Chollet S., Bauduin R., Le Quéré J. M., Baron A., 2014b. Impact of apple procyanidins on sensory perception in model cider (part 2): Degree of polymerization and interactions with the matrix components. *LWT - Food Science and Technology* 57, 28-34.
- Tavernier J., Jacquin P., 1949. Etude technologique de variétés de pommes à cidre. Revue interne du Groupement National Interprofessionnel des fruit à cidre et dérivés, Paris, 1, 36.
- Travers E., 1896. Traduction de "De Vino e Pomaceo" (Traité du Vin et du Cidre) de Julien Le Paulmier (1592). Lestringant Eds, Rouen.
- Verdu C.F., Childebrand N., Marnet N., Lebaill G., Dupuis F., Laurens F., Guilet D., Guyot S., 2014a. Polyphenol variability in the fruits and juices of a cider apple progeny. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94, 1305-1314.
- Verdu C.F., Guyot S., Childebrand N., Bahut M., Celton J.M., Gaillard S., Lasserre-Zuber P., Troggio M., Guilet D., Laurens F., 2014b. QTL Analysis and Candidate Gene Mapping for the Polyphenol Content in Cider Apple. *Plos One*, 9.
- Vidal S., Courcoux P., Francis L., Kwiatkowski M., Gawel R., Williams P., Waters E., Cheynier V., 2004. Use of an experimental design approach for evaluation of key wine components on mouth-feel perception. *Food Quality and Preference* 15, 209-217.
- Vidal S., Francis L., Guyot S., Marnet N., Kwiatkowski M., Gawel R., Cheynier V., Waters E. J., 2003. The mouth-feel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine-like medium. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83, 564-573.
- Zanchi D., Konarev P. V., Tribet C., Baron A., Svergun D. I., Guyot S., 2009. Rigidity, conformation, and solvation of native and oxidized tannin macromolecules in water-ethanol solution. *J. Chem. Phys.* 130, article number 245103. DOI: 10.1063/1.3156020

Thèse de Doctorat

Ronan SYMONEAUX

Le « goût » du cidre : Exploration des interactions entre les composés chimiques et les caractéristiques organoleptiques des cidres

The “cider flavor”: Interactions between chemical compounds and sensory properties of ciders

Résumé

L'objectif de cette thèse est d'étudier l'influence des procyanidines, du sucre, de l'acide, de l'éthanol, des arômes et du CO₂ sur le goût sucré, l'acidité, l'amertume et l'astringence du cidre. Des plans d'expériences ont été réalisés en solutions modèles et avec des cidres commerciaux afin d'étudier les effets directs des composés chimiques mais également les interactions entre eux sur la perception de ces quatre attributs sensoriels.

Les résultats confirment le rôle déterminant des procyanidines, du sucre, de l'acide, de l'éthanol sur les quatre caractéristiques organoleptiques étudiées. Il faut souligner l'influence de la concentration et du degré de polymérisation des procyanidines qui modifient les perceptions sucrées et acides. Ces travaux montrent également une surexpression de l'amertume pour les procyanidines tétramères et pentamères mais seulement pour des concentrations de 750 mg/L, et une interaction entre la concentration et le degré de polymérisation pour l'astringence.

Excepté pour l'amertume, la présence de gaz carbonique modifie la perception sensorielle des échantillons testés : l'astringence augmente, le goût sucré diminue pour les solutions les plus sucrées et finalement, il semble que les dégustateurs aient plus de mal percevoir les différences d'acidité entre les échantillons.

Enfin, les arômes peuvent modifier la perception du goût sucré de certains cidres par un effet de congruence. En effet, la présence de notes aromatiques « fruitées » est accompagnée d'une surévaluation du goût sucré et des notes « terreux-foin » conduisent à une diminution du goût sucré perçu. Cependant, ce phénomène de congruence semble être concentration-dépendante.

Mots clés :

Cidre, Procyanidines de pommes, Interactions chimiques, Interactions cognitives, Panel entraîné, CO₂

Abstract

The aim of this thesis is to study the influence of procyanidins, sugar, acid, ethanol, CO₂ and aroma on the perception of sweetness, sourness, bitterness and astringency of cider. Experimental designs were carried out with model solutions or commercial ciders to study the direct effects and interactions of the chemical compounds on these four organoleptic characteristics.

The results confirm the key role of procyanidins, sugar, acid, ethanol on the four organoleptic characteristics. We notably underline the influence of procyanidins concentration and polymerization degree on sweetness and sourness when literature only focused on bitterness and astringency. Our works also indicate an overexpression of bitterness for tetrameric and pentameric procyanidins but only for concentration of 750 mg/L, and an interaction between concentration and polymerization degree for astringency.

Except for bitterness, adding CO₂ modify sensory characteristics of the samples: astringency increases, sweetness decreases for the sweetest solutions and it seems that tasters have more difficulty perceive acidity differences between samples.

Finally, the aromatic characteristics can modify sweetness perception of some ciders due to a congruency effect. Indeed, “fruity” notes generate an over evaluation of sweetness when “hay-earthly” aromas lead to a decrease of this taste. Nevertheless, this phenomenon appears to be concentration dependent.

Key Words :

Cider, Apple Procyanidins, Chemical Interaction, Cognitive Interaction, Trained Panel, Flavor, CO₂